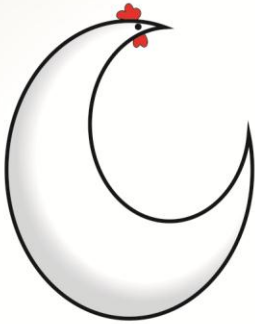


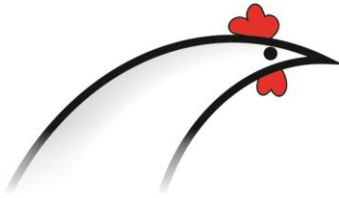
NUCLEOVET



NUCLEO OESTE DE  
MÉDICOS VETERINÁRIOS  
E ZOOTECNISTAS/SC



# XIV Simpósio Brasil Sul de Avicultura



V Brasil Sul  
Poultry Fair

## Anais

09 a 11 de abril de 2013  
Chapecó, SC - Brasil



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Suínos e Aves  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
Associação Catarinense de Medicina Veterinária – Núcleo Oeste***

# **ANAIS DO XIV SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA E V BRASIL SUL POULTRY FAIR**

***Embrapa  
Brasília, DF  
2013***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Associação Catarinense de Medicina Veterinária – Núcleo Oeste**

Endereço: Rua Egitto, 31 – E  
Bairro: Maria Goretti  
CEP 89.801-420, Chapecó – SC  
Fone/Fax: 49 3328-4785  
E-mail: [nucleovet@nucleovet.com.br](mailto:nucleovet@nucleovet.com.br)  
Site: <http://www.nucleovet.com.br>

**Embrapa Suínos e Aves**

BR 153, Km 110  
Caixa Postal 21  
CEP 89.700-000  
Concórdia – SC  
Fone: (49) 3441 0400  
Fax: (49) 3441 0497  
E-mail: [cnpsa.sac@embrapa.br](mailto:cnpsa.sac@embrapa.br)  
Site: <http://www.cnpsa.embrapa.br>

**Unidade responsável pelo conteúdo**

Associação Catarinense de Medicina Veterinária – Núcleo Oeste\*

**Unidade responsável pela edição**

Embrapa Suínos e Aves

Comitê de Publicações da Embrapa Suínos e Aves

Presidente: *Luizinho Caron*

Secretária: *Tânia M.B. Celant*

Membros: *Gerson N. Scheuermann*

*Jean C.P.V.B. Souza*

*Helenice Mazzuco*

*Nelson Morés*

*Rejane Schaefer*

Suplentes: *Mônica C. Ledur*

*Rodrigo S. Nicoloso*

Coordenação editorial: *Tânia M. B. Celant*

Editoração eletrônica: *Vivian Fracasso*

Normalização bibliográfica: *Claudia A. Arrieche*

**1ª edição**

1ª impressão (2013): 1.000 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Suínos e Aves

---

Simpósio Brasil Sul de Avicultura (14.: 2013, Chapecó, SC).

Anais do XIV Simpósio Brasil Sul de Avicultura e V Brasil Sul Poultry Fair. – Brasília, DF : Embrapa, 2013.

257 p.; 14,8 cm x 21 cm.

ISBN 978-85-7035-171-5

1. Avicultura – congressos. I. Título. II. Título: V Brasil Sul Poultry Fair.

CDD 636.50063

---

© Embrapa 2013

---

\*As palestras e os artigos foram formatados diretamente dos originais enviados eletronicamente pelos autores.

## Realização



## Co-promoção



## Apoio



## Patrocinadores



## **Relação de Patrocinadores**

- Adisseo Brasil Nutrição Animal Ltda
- Agrocerees Multimix Nutrição Animal Ltda
- Ajinomoto do Brasil Ind. e Com. de Alimento Ltda Divisão Nutrição Animal
- Alltech do Brasil
- Aviagen
- Avisite e Revista do Avisite
- Big Dutchman Brasil Ltda
- Ceva Saúde Animal
- Cobb Vantress Brasil Ltda
- Conselho Regional de Medicina Veterinária – SC
- DES-VET Produtos Veterinários
- DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda
- Embrapa Suínos e Aves
- Equalis – Ensino e Qualificação Superior
- Farmabase Saúde Animal
- Fatec Indústria de Nutrição e Saúde Animal Ltda
- Foss do Brasil Instrumentos Analíticos e Soluções Dedicadas Ltda
- GRASP Indústria e Comércio Ltda
- Grupo M.CASSAB
- Holus – Assessoria de Eventos
- Hubbard do Brasil Avicultura Ltda
- HUVEPHARMA
- ICC
- Ilender do Brasil
- Impextraco Latin América
- Ingredion Brasil – Ingredientes Industriais Ltda
- JBS United
- Jornal O Presente
- Kemin do Brasil
- Lavizoo Laboratórios Vitamínicos e Zootécnicos Ltda
- Mercolab Laboratórios Ltda

- Merial Saúde Animal Ltda
- MSD Saúde Animal
- NFT Alliance
- Novartis Saúde Animal Ltda
- Nutriad Nutrição Animal Ltda
- Nutron Alimentos – A Cargill Company
- Ouro Fino Agronegócio Ltda
- Phibro Saúde Animal
- Poli-Nutri Alimentos S.A.
- Safeeds Nutrição Animal
- SANPHAR Saúde Animal Ltda
- Soma Ambiental
- Tecnoesse Indústria e Comércio Ltda
- Tectron Importadora e Exportadora de Produtos Veterinários Ltda
- Vaccinar Nutrição e Saúde Animal
- Vansil Saúde Animal
- Vetanco do Brasil Importação e Exportação Ltda
- Zinpro Animal Nutrition Brasil Com. Ltda
- Zoetis
- YES

## **Comissão Organizadora**

Aleteia Brito da Silveira Balestrin  
Alex Maldonado  
Alexandre Gomes da Rocha  
Alexandre Rocha Lima  
Artur Valério Cony  
Beatriz de Felipe Peruzzo  
Carlos Eduardo Luiz Silva  
Ederson Bortolotto  
Felipe Ceolin  
Felipe Leonardo Koller  
Gersson Antonio Schmidt  
Jair Detoni  
João Batista Lancini  
João Romeu Fabrício  
Leandro Luiz Ribeiro  
Lenita Moura Stefani  
Luis Carlos Farias  
Luis Carlos Peruzzo  
Nilson Sabino da Silva  
Roberto Luiz Curzel  
Rodrigo Santana Toledo  
Rogério Francisco Balestrin  
Silvano Bunzen

## **Secretária**

Solange Fatima Kirschner



## **Mensagem da Comissão Organizadora**

O Núcleo Oeste de Médicos Veterinários e Zootecnistas tem a honra de recebê-los para o nosso **XIV Simpósio Brasil Sul de Avicultura** e para a **V Poultry Fair**.

O Brasil precisa adaptar-se rapidamente ao novo cenário da produção avícola mundial. Como grande produtor de alimentos, cada vez mais, somos vistos pelos concorrentes internacionais como uma ameaça, que por uma questão de sobrevivência vem aumentando as barreiras técnico-comerciais em relação aos nossos produtos. Além do chamado “custo Brasil” que torna nosso produto menos competitivo internacionalmente, em 2012 todo segmento enfrentou grandes dificuldades com aumento nos custos de matérias primas, dificuldades com mão de obra, falta de infraestrutura e exportações abaixo das estimadas. Nossos principais concorrentes, como todos sabem, incentivam a produção de alimentos com uma série de benefícios e subsídios que o nosso produtor não tem. Não podemos transpor estas barreiras somente com nossa raça; entendemos que é urgente e crítico encontrar alternativas que tragam resultados rápidos e práticos, com inovação e criatividade.

Os técnicos brasileiros são reconhecidos internacionalmente por sua capacidade e, em momentos de crise econômica mundial, que afeta diretamente a avicultura nacional, temos que encontrar novas ferramentas que garantam nossa vantagem competitiva sem ameaçar nosso “status” sanitário. Não resta outra opção que não seja a de capacitarmos cada vez mais nossos profissionais, agregando valor aos nossos produtos e, viabilizando com isso, o sucesso das agroindústrias com crescimento em volume, quantidade e competitividade, a exemplo de outros segmentos do mercado.

A comissão organizadora entende que o XIV Simpósio Brasil Sul de Avicultura, é uma das formas pelas quais podemos colaborar, buscando temas e profissionais capacitados que, através de suas pesquisas e experiências, possam agregar novos conhecimentos, viabilizar o intercâmbio entre a área científica e produção, atuando como ferramenta importante em termos de especialização e educação continuada.

Neste ano, atendendo uma demanda da área acadêmica, faremos uma experiência com a divulgação de trabalhos científicos, buscando com isso estimular nossos pesquisadores a focarem seus projetos no estudo de temas que possam, efetivamente, cooperar com o segmento produtivo.

Realizaremos a V Poultry Fair que já se consolidou como uma praça de oportunidades técnicas e comerciais sendo prestigiada pelas principais empresas de genética, nutrição, sanidade e equipamentos e que, através de seus produtos inovadores, irão complementar nossos objetivos de integração e conagração com os colegas envolvidos neste importante setor.

Aguardamos todos em Chapecó!

**Joao Batista Lancini**  
*Presidente do Núcleo Oeste de*  
*Médicos Veterinários e Zootecnistas*

## Programação Científica

### 09 de abril de 2013

13h30 - **Abertura**

#### **Painel sobre condenações**

14h - **Critérios de condenações: impacto nos resultados produtivos e na qualidade do produto**

*Dr. Michel Quinteiro - MAPA*

*Prof. Dr. Ariel Mendes - UBABEF*

*Prof. Dra. Lenita Moura - UDESC*

19h30 - **Indústria avícola: presente e futuro**

*Sr. Francisco Turra - Brasil*

21h - **Coquetel de abertura**

### 10 de abril de 2013

8h - **Grãos: presente e futuro**

*Sr. André Debastiani - Brasil*

9h - **Coccidiose: presente e futuro**

*Dra. Hyun Soon Lillehoj - USA*

10h - Intervalo

10h30 - **Pneumovirus - impacto na produção de frangos de corte**

*Dr. Taylor Barbosa - USA*

11h30 - **Bronquite infecciosa: vacinas e problemas para imunização**

*Dr. Mark Jackwood - USA*

12h30 - Almoço

14h - **Análise de risco de resíduos de medicamentos, violações e barreiras comerciais**

*Dr. Alexandre Teixeira Zocche - Brasil*

15h - **Práticas de manejo para redução de problemas sanitários**

*Dr. Claude Toudic - França*

16h - Intervalo

20h - **Jantar Show**

## **11 de abril de 2013**

8h - **Sustentabilidade: custos para a indústria e importância no contexto produtivo e social**

*Sr. Clever Ávila - Brasil*

9h - **Importância da qualidade e do manejo da água na produção de frangos de corte**

*Eng. Agr. Dr. Everton Krabbe - Brasil*

10h - Intervalo

10h30 - **Eficiência da peletização e o impacto nos resultados zootécnicos**

*Prof. Dr. Alex Maiorka - Brasil*

11h30 - **Alternativas para redução dos custos de produção**

*Dr. Iesser Salah - Brasil*

12h30 - Encerramento das atividades

# Sumário

<b>PALESTRAS.....</b>	<b>15</b>
Critérios de condenações: impactos nos resultados produtivos e na qualidade do produto.....	17
<i>Michel Tavares Quinteiro Milcent Assis</i>	
Critérios de condenações: impactos nos resultados produtivos e na qualidade do produto - a visão da indústria.....	23
<i>Ariel Antonio Mendes</i>	
Redução microbiana em carcaças de frango de corte: estudo comparativo do refil e lavagem.....	34
<i>Rodrigo Guilherme Backes, Lenita Moura Stefani</i>	
Grãos: presente e futuro.....	57
<i>André Debastiani</i>	
Coccidiose: presente e futuro.....	58
<i>Hyun Soon Lillehoj</i>	
Pneumovirus - impacto na produção de frangos de corte.....	71
<i>Taylor Barbosa</i>	
Immunopathology in infectious bronchitis and its role in the vaccination response.....	81
<i>Mark W. Jackwood</i>	
Análise de risco de resíduos de medicamentos, violações e barreiras comerciais.....	86
<i>Alexandre Teixeira Zocche</i>	
Thoughts about broiler house ventilation conception and management in south Brazil.....	98
<i>Claude Toudic</i>	
Sustentabilidade: custos para a indústria e importância no contexto produtivo e social.....	112
<i>Cleber Ávila</i>	
Importância da qualidade e do manejo da água na produção de frangos de corte.....	113
<i>Everton Krabbe, Alessandra Romani</i>	

Eficiência da peletização e o impacto nos resultados zootécnicos.....	122
<i>Andréia Massuquetto, Alex Maiorka</i>	

Alternativas na redução dos custos de produção de frangos de corte.....	142
<i>Iesser Salah</i>	

## **ARTIGOS CIENTÍFICOS..... 157**

Desempenho de frangos de corte no período de um a sete dias recebendo dietas suplementadas ou não com probiótico e ou betaglucano.....	159
<i>Taniara Suelen Mezalira, Luciana Kazue Otutumi, Matheus Luiz Hryniewicz Santos, Sarah Satie Suenaga, Luiz Paulo Machado, Ranulfo Piau Junior</i>	

Perfil bioquímico de amostras de <i>Escherichia coli</i> isoladas de diferentes materiais de origem avícola e sua relação com a patogenicidade.....	165
<i>Flávia Bornancini Borges Fortes, Carlos Tadeu Pippi Salle, Caroline Carniel Hiller, Daniela Pinheiro De Barros, Diana Bertani Giotto, Juliana Herpich</i>	

Notificações de mortalidade de aves feitas ao serviço veterinário oficial estadual do Rio Grande do Sul (região do Vale do Taquari e adjacências) em 2012.....	173
<i>Flávia Bornancini Borges Fortes, Felipe Lopes Campos, Gisele Cristine Branco, Valéria Cristina Rocha Campos</i>	

Avaliação da resistência antimicrobiana de cepas de <i>Escherichia coli</i> de origem aviária isoladas no Rio Grande do Sul.....	179
<i>Thales Quedi Furian, Leonardo Moreira Lima, Karen Apellanis Borges, Silvio Luis Da Silveira Rocha, Felipe Oliveira Salle, Carlos Tadeu Pippi Salle</i>	

Isolamento de espécies de <i>Campylobacter spp.</i> termotolerantes em lotes de frangos de corte.....	185
<i>Gustavo Perdoncini, Leonardo Moreira Lima, Michele Martins Trindade, Yuli Melisa Sierra Arguelo, Daiane Carvalho, Vladimir Pinheiro do Nascimento</i>	

Vírus da bronquite infecciosa das galinhas: detecção e genotipagem em lotes de matrizes e frangos de corte do Brasil.....	193
<i>Aline Padilha de Fraga; Eder Balestrin; Nilo Ikuta; Vagner Ricardo Lunge</i>	

Índice de resistência antimicrobiana de <i>Salmonella spp.</i> isoladas de farinhas de origem animal utilizadas na alimentação de aves.....	199
<i>Benito Guimarães de Brito, Tiela Trapp Grassotti, Fabrine Finkler, Kelly Cristina Tagliari de Brito</i>	

Índice de resistência múltipla antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> isolada de fezes e de frangos de corte.....	205
<i>Kelly Cristina Tagliari de Brito, Tiela Trapp Grassotti, Fabrine Finkler, Benito Guimarães de Brito</i>	
Efeito de doses elevadas de fitase em dietas para frangos de crescimento/terminação sem suplementação de fósforo inorgânico.....	211
<i>Thiago Pereira Ribeiro, Rafael Hermes, Ivânio José Martins Bueno, Diego Surek, Fabiano Dahlke, Alex Maiorka</i>	
Monitoria sanitária em aves por ELISA indireto, e como a interpretação dos resultados pode auxiliar no ensino de medicina de veterinária.....	218
<i>Juliana Midori Omura, Fausto de Almeida Marinho Neto, Maicon Alves Paiva dos Santos, Marcos Augusto Alves da Silva, Rogério Salvador, Claudia Yurika Tamahiro</i>	
Eficiência da lavagem na redução de coliformes totais em carcaças de frangos contaminadas com material fecal.....	223
<i>Rodrigo Guilherme Backes, Lenita Moura Stefani, Juliana Maria de Almeida, Cláudia Pies Biffi, Anaiara Langaro, Gabriella Bassi das Neves</i>	
Redução da contagem de mesófilos em carcaças de frango através do método da lavagem.....	227
<i>Rodrigo Guilherme Backes, Lenita Moura Stefani, Juliana Maria de Almeida, Cláudia Pies Biffi, Helen Krystine Silva, Gabriella Bassi das Neves</i>	
Perfil fenotípico e genotípico de isolados avícolas de <i>Salmonella typhimurium</i> frente ao antimicrobiano Ceftiofur.....	231
<i>Claudia Pies Biffi, Lenita Moura Stefani, Juliana de Almeida, Rodrigo Backes, Helen Krystine Silva, Gabriella Bassi das Neves</i>	
Atividade microbiana de macrófagos abdominais de aves SPF suplementadas com vitamina e frente ao vírus da bronquite infecciosa...	237
<i>Juliana Maria de Almeida, Lenita Moura Stefani, Rodrigo Guilherme Backes, Claudia Pies Biffi, Gabriella Bassi das Neves, Wagner Loyola</i>	
Biometria de frangos de corte aos 21 dias alimentados com ração contendo extrato etanólico de <i>piper cubeba</i> .....	243
<i>Marcela da Silva Rubio, Érica dos Santos Mello, Nayara Pantolli, Patricia Salvador Baptista, Rosângela da Silva de Laurentiz, Antonio Carlos de Laurentiz</i>	
Biometria de frangos de corte aos 21 dias alimentados com ração contendo sementes secas de <i>piper cubeba</i> .....	249
<i>Marcela da Silva Rubio, Leonardo Tedeschi, Felipe de Lima Silva, Sérgio Turra Sobrane Filho, Antonio Carlos de Laurentiz, Rosângela da Silva de Laurentiz</i>	

Detecção sorológica de <i>Mycoplasma synoviae</i> em aves desafiadas usando um novo ELISA.....	255
<i>Gwenllyan F. Slacum, Bart Van Leerdam, Mariangela Manfredini</i>	

Correlação de condenação de carcaça e resultados de produção com variáveis comuns na criação de frango de corte.....	256
<i>Beatriz Cardoso, Virginia Leo de Almeida Pereira, Elmiro Rosendo do Nascimento, Simone Machado</i>	



**PALESTRAS**



## **CRITÉRIOS DE CONDENAÇÕES: IMPACTOS NOS RESULTADOS PRODUTIVOS E NA QUALIDADE DO PRODUTO**

**Michel Tavares Quinteiro Milcent Assis**

*MAPA*

### **Resumo**

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, aprovado pelo Decreto 30.691/1952 estabelece em na Seção V sobre a inspeção de aves e pequenos animais, porém é bastante superficial, com apenas 33 artigos sobre o tema. A Portaria nº 210/1998 publicou o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. É uma norma bem mais específica, que estabelece diversos parâmetros que devem ser seguidos.

A inspeção ante mortem compreende a análise da documentação encaminhada junto com os lotes e o exame clínico das aves destinadas ao abate. Tem como objetivos evitar o abate de aves com repleção do trato gastrointestinal e, conseqüentemente, possíveis contaminações durante o processamento industrial; conhecer o histórico do lote; detectar doença que não seja possível a identificação no exame post mortem, especialmente, as que afetam o sistema nervoso; e identificar lotes de aves com suspeitas de problemas que, comprovadamente, justifiquem redução na velocidade normal de abate ou o abate em separado.

A inspeção post mortem é realizada logo após o abate das aves, através de exame visual macroscópico de carcaças e vísceras e, conforme o caso, palpação e cortes. É feita nas linhas de inspeção, local que possui espaço adequado, iluminação suficiente, pontos de higienização e sistema para a perfeita correlação das partes condenadas com os lotes abatidos. Existe um número mínimo de inspetores de linha, de acordo com a velocidade do abate, e estes são contratados pelas empresas e cedidos ao Serviço

de Inspeção. Essa equipe deve ser coordenada pelo Médico Veterinário Oficial, podendo ser auxiliado por Agentes de Inspeção também Oficiais. Somente após o término da inspeção post mortem haverá retirada e/ou processamento de carcaças e/ou partes e miúdos. Devido a isso, geralmente existem pontos de pré-inspeção instalados antes do corte das patas, cabeças ou outras parte da carcaça.

Para que haja perfeita correlação entre vísceras e carcaças e seja feita a correta inspeção post mortem, a fase preparatória, a eventração das vísceras, deve ser realizada corretamente. DANTAS et al. (2003), após avaliarem 82.520 frangos abatidos em nove dias diferentes, observaram que o percentual de carcaças não eventradas nas linhas de inspeção era 2,45% e que o percentual de carcaças sem a vísceras nas linhas de inspeção era de 2,64%.

Diversos fatores podem interferir no número de condenações em um estabelecimento de abate, desde a condição sanitária dos lotes, a época do ano, o manejo pré-abate, a tecnologia empregada no estabelecimento e a equipe que realiza as operações de abate e inspeção sanitária. Devido a isso, quando comparamos dados de estabelecimentos distintos, o número de condenações totais e parciais pode variar de forma significativa. Os critérios adotados para a condenação de carcaças e vísceras é relativamente simples. No caso de lesões patológicas, se o agente etiológico comprometer a qualidade da carne, de forma sistêmica, carcaças e vísceras são condenadas. Se não houver comprometimento da carne, pode ser aproveitado o restante. No caso de condições não patológicas, condena-se a parte afetada e aproveita-se o restante. Existem alguns casos em que a legislação determina a condenação total da carcaça, como na sangria inadequada, mas trabalhos apontam um possível aproveitamento das carcaças de aves mal sangradas na elaboração de produtos processados (MANO, 1992).

No Estado de Santa Catarina, em estabelecimentos com Serviço de Inspeção Federal, as principais causas de condenação total, nos anos de 2010, 2011 e 2012, foram por aspecto repugnante, contaminação, caquexia, síndrome ascítica, colibacilose, celulite. As principais causas de condenação parcial foram por contaminação, dermatose, contusão/fratura, celulite,

artrite, aerossaculite. Em um universo de 2.386.693.123 aves abatidas, 14.920.201 forma totalmente condenadas, o que representou um percentual de 0.63%. Com relação às condenações parciais, 133.533.970 aves tiveram suas partes condenadas, ou seja, 5,59%.

SILVA e PINTO (2009), a realizarem estudo sobre as condenações de um abate de frangos em um frigorífico em Santa Catarina, de janeiro a setembro de 2008, observaram que os maiores índices de condenações totais foram devido a escaldagem excessiva, contaminação, evisceração retardada, sangria inadequada. Para as condenações parciais, os maiores índices foram por contusão/fratura, contaminação, escaldagem excessiva.

FERREIRA et al. (2012) desenvolveram trabalho de levantamento de dados das principais condenações total e parcial na inspeção post mortem de carcaças de frangos de corte de um matadouro-frigorífico localizado na região sul do Brasil. No período de janeiro de 2009 a junho de 2011, o percentual de condenações totais chegou a uma média de 0,65%, sendo que as condenações parciais alcançaram a média de 4,74%. As principais causas de condenação total foram por contaminação, caquexia e aspecto repugnante. Com relação às condenações parciais, as principais causas foram por contaminação, contusão/fratura e celulite.

Quando falamos de condenação total, é relativamente fácil estimar as perdas, pois devemos apenas considerar o número de aves condenadas e peso médio do respectivo lote. Contudo, quando falamos de condenações parciais é um pouco mais complicado. ASSIS *et al* (2003) fizeram um estudo para avaliar o peso das partes rejeitadas de carcaças que foram destinadas à condenação parcial, em relação ao peso do frango vivo, decorrentes das lesões observadas com maior frequência nas linhas de inspeção post mortem. Foram analisados 288.563 frangos. No grupo 1 foram incluídos os frangos condenados parcialmente por aerossaculite, contaminação e síndrome ascítica, sendo que o percentual de descarte nesse grupo foi de 29,59%. O grupo 2, no qual foram incluídas as lesões por abscessos, contusão/fratura e artrites, o percentual foi de 6,40%. E no grupo 3, que compreendeu as lesões por dermatoses e celulites, o percentual de descarte foi de 4,38% sobre o peso do frango vivo. Ao calcularmos os três grupos,

chegamos a um percentual de 9,85% de descarte sobre o peso de frango vivo.

Os métodos de inspeção sanitária de aves executados hoje em dia certamente merecem ser modernizados. Os europeus declararam recentemente que os seus métodos de inspeção de carnes de aves não são suficientes para controlar os riscos biológicos mais relevantes, tais como *Campylobacter* e *Salmonella*. Em um relatório da EFSA – Supporting Publications 2012:EN-298 – que trata das práticas atuais de abate de aves e de inspeção de carnes de aves, é descrito que os métodos de inspeção atuais, que são visuais, não permitem que estes patógenos sejam detectados de forma adequada. Foi relatado ainda que há uma falta de harmonização regulatória entre Estados Membros da União Européia. “Este relatório mostra que a legislação atual não cobre os requisitos específicos de inspeção de carne de aves de uma forma ideal”, disse o relatório. “Não há harmonização suficiente, entre os diferentes Estados Membros, para a implementação do Reg. N ° 854/04”. Adicional a isso, o relatório diz que “a legislação carece de um catálogo claro das causas de condenação e também não são especificadas as circunstâncias em que toda a carcaça deve ser rejeitada, ou se apenas as vísceras ou conjunto de vísceras afetados devem ser condenados”. O estudo vem sendo realizado desde maio de 2010, com o objetivo de recomendar métodos que levam em conta os riscos não abordados por práticas de inspeção atuais.

Logo após a publicação do relatório, a Food Standards Agency (FSA) do Reino Unido, elogiou o trabalho realizado ressaltando que o mesmo vem para melhorar a saúde pública e para fornecer base científica para a modernização da inspeção da carne de aves. Disse também que a EFSA tem argumentado há algum tempo que o sistema atual de controles oficiais de carnes não aborda os patógenos mais relevantes das carnes, que são microbiológicos e não podem ser detectados a olho nu.

O FSIS/USDA vem questionando os métodos clássicos de inspeção de aves desde 2008. Em novembro de 2011, o Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar Americano publicou uma Avaliação de Risco detalhada sobre a Inspeção Sanitária no abate de aves. Nesse documento, o FSIS propõe um novo sistema de controle,

mudando de local a atuação do pessoal de inspeção em estabelecimentos de abate de aves. Segundo as diretrizes do novo sistema de inspeção, os estabelecimentos de abate de aves poderão decidir se irão operar com uma versão ligeiramente modificada do atual sistema de controle ou se vão adotar o novo sistema proposto. A intenção do novo sistema é permitir que os recursos do FSIS sejam aplicados de forma mais eficiente. “Se essa eficiência não reduz (ou não muda) a ocorrência de patógenos de origem alimentar, tais como *Salmonella* e *Campylobacter* em produtos avícolas acabados, um benefício de saúde na rede pública pode ser projetado. Melhorias de eficiência devem ocorrer, permitindo que mais tempo e flexibilidade seja dado para o pessoal do FSIS para realizar atividades de verificação com base em fatores de risco para a saúde humana. O novo sistema proposto também pode impulsionar a inovação tecnológica da indústria, porque eles vão ter maior controle sobre a classificação de carcaça e estabelecer velocidades máximas de linha”, diz o documento.

Os inspetores do FSIS nas linhas de abate, como acontece na Europa e no Brasil, atualmente realizam inspeções de cada carcaça de aves para avaliar se aquela é própria para o consumo, enquanto que os inspetores do FSIS que não estão nas linhas de abate verificam se os estabelecimentos mantêm operações sanitárias adequadas e promovem outros requisitos de saúde e segurança alimentar. “Na maioria das vezes, os inspetores de linha estão mais associados ao controle de qualidade dos produtos do que à segurança alimentar propriamente dita”, relata o FSIS.

A nossa Portaria 210, apesar de ainda ser bastante aplicável, é uma norma antiga e necessita de uma boa revisão. A Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura publicou no dia 05/07/2012 a Portaria nº 79, que cria junto ao Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA uma Comissão Científica Consultiva em Patologia Animal. Este grupo terá como objetivo principal subsidiar tecnicamente o DIPOA na definição de critérios de julgamento de carcaças e vísceras, propondo revisões das normas atuais de inspeção ante e post mortem dos animais de abate. Esta notícia certamente vem a calhar com as recentes discussões sobre revisão das normas de inspeção e resta-nos saber como serão dados os encaminhamentos nesse sentido.

## Referências bibliográficas

ASSIS, M. T. Q. M.; GRUBER, G. L.; HOFMEISTER, A. W.; GUIMARÃES, A. M. P.. Avaliação do percentual de descarte na condenação parcial de frangos. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo/SP, p. 22-30, 01 mar. 2003.

BRASIL, Decreto 30.691/52. **Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA)**. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. Publicado no Diário Oficial da União de 07/07/1952, Seção 1, Página 10785.

BRASIL. Portaria n.º 210/98. **Regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves**. Brasília: M.A.A., 1998. Publicado no Diário Oficial da União de 26/11/1998, Seção 1, Página 226.

DANTAS, C. E. S.; SCOFANO, A. S.; SILVA, T. J. P.; ASSIS, M. T. Q. M.; HOFMEISTER, A. W.. Avaliação da eficácia do processo de eventração mecânica em um matadouro de aves da região do extremo oeste catarinense. **Higiene Alimentar**, v. 17, p. 104-105, 2003.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). *Supporting Publications 2012:EN-298*. Overview on current practices of poultry slaughtering and poultry meat inspection. Disponível no endereço eletrônico <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/298e.pdf>. Acessado em 27/03/2013.

FERREIRA, T. Z.; SESTERHENN, R.; KINDLEIN, L.. Perdas econômicas das principais causas de condenações de carcaças de frangos de corte em Matadouros-Frigoríficos sob Inspeção Federal no Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**. Pub 40(1):1021, 2012.

FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE (FSIS). *FSIS Risk Assessment for Guiding Version 11-14-11*. Public Health-Based Poultry Slaughter Inspection Risk Assessment. Disponível no endereço eletrônico [http://www.fsis.usda.gov/PDF/Poultry\\_Slaughter\\_Risk\\_Assess\\_Nov2011.pdf](http://www.fsis.usda.gov/PDF/Poultry_Slaughter_Risk_Assess_Nov2011.pdf). acessado em 27/03/2013.

MANO, S. B.. Influência da sangria na qualidade da carne de aves (*Gallus domesticus*) resfriada. **Dissertação de Mestrado, UFF**. Niterói/RJ, 1992.

SILVA, V. A. M.; PINTO, A. T.. Levantamento das condenações de abate de frangos e determinação das causas mais prevalentes em um frigorífico em Santa Catarina. **Anais do Prêmio Lamas**. 2009.



## **CRITÉRIOS DE CONDENÇÕES: IMPACTOS NOS RESULTADOS PRODUTIVOS E NA QUALIDADE DO PRODUTO: A VISÃO DA INDÚSTRIA**

**Ariel Antonio Mendes**

*UBABEF*

### **Introdução**

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de frango com um total de 6,291 bilhões de aves produzidas em 2012 que resultaram em uma produção de 12,645 milhões de toneladas de carne, sendo que 3,918 milhões de toneladas foram exportadas para 153 países UBABEF (2013). Os principais produtos exportados são frangos inteiros do tipo "griller" para países árabes, filé de peito salgado para a Europa, cortes desossados de coxa e sobrecoxa para o Japão asas e patas para a China e outros mercados da Ásia. A maior parte da exportação e da comercialização no mercado interno se dá na forma de cortes, mas existem alguns mercados com uma demanda alta por carcaças inteiras, como é o caso da Venezuela e alguns países da África.

Devido a necessidade de aumentar a escala de produção para atender as demandas do mercado e compensar a queda na rentabilidade por ave, o sistema de produção e abate teve que ser intensificado e automatizado o que trouxe como consequência uma maior susceptibilidade das aves ao aparecimento de problemas sanitários e de condenações no abatedouro.

As principais causas de condenação no abatedouro podem ser divididas em patológicas, de manejo e falhas tecnológicas ocorridas durante o abate das aves. Mas, devido a biosseguridade, as condenações por causas patológicas são minoria sendo que mais de 80% das condenações se devem falhas de manejo e tecnológicas que levam a condenações de partes da carcaça. Em alguns casos, essas condenações podem ser inclusive totais. Esse número é maximizado devido a distorções no processo de inspeção uma vez que a legislação que rege o setor é de 1952 (RIISPOA),

complementada pela Portaria 210 de 10 de novembro de 1998, que define os critérios de inspeção e o destino das condenações. Além disso, a genética das aves evoluiu muito nos últimos anos e várias condenações realizadas pelos técnicos do Serviço de Inspeção são indevidas já que não comprometem a qualidade do produto final. Como exemplo, pode-se citar o caso da degeneração hialina e substituição gordurosa das fibras musculares (white stripping) e o papo penduloso. Além disso, boa parte das condenações tipificadas como artrite não apresenta quadro inflamatório, tratando-se de simples problemas ósseos relacionados com o crescimento acelerado das aves.

## **Condenações por causas patológicas**

As condições que podem estar relacionadas a patologias são: aspecto repugnante, caquexia ou magreza, septicemia/colibacilose, ascite, artrite/tendinite, aerosaculite, abscesso, celulite, dermatite e dermatose.

A condenação de carcaças inteiras está diretamente relacionada com a época do ano. A incidência de septicemias/toxemias, tumores e aerosaculites ocorrem em maior escala durante o outono e inverno, enquanto que celulites ocorrem mais durante a primavera e verão. Mau desenvolvimento está associado com doença de Gumboro.

Para evitar esses problemas deve-se trabalhar com pintos livres de *Mycoplasma*, controlar *Escherichia coli* e utilizar um programa de vacinação contra Bronquite Infecciosa e Doença de Gumboro. Além disso, a utilização de um programa racional de pulverização da cama com desinfetante contribui para diminuir a população microbiana no ambiente de criação, melhorando o desempenho da ave e diminuindo a condenação no abatedouro.

Já a celulite, é uma consequência das infecções subcutâneas que resultam da contaminação bacteriana nos arranhões da pele. Embora várias bactérias possam estar envolvidas nesse processo, a *Escherichia coli* é a mais predominante. Linhagem, tipo nutrição, taxa de lotação, distância entre comedouros e bebedouros, tipo de cama, restrição de alimento e programas de iluminação podem afetar a incidência e a gravidade

do problema. A utilização de minerais quelatados, em especial o zinco, associado a uma suplementação adequada de vitamina E, tem dado bons resultados no controle da celulite em frangos de corte. No caso de miúdos, a condenação mais frequente é do fígado, por hepatite.

## **Condenações por causas não patológicas**

As principais condições devidas a falhas no manejo e no processo de abate são: hematomas, contusão, fraturas, pododermatite, arranhões, contaminação, excesso de escaldagem, má sangria e evisceração retardada.

O frango de corte apresenta um crescimento rápido e, por este motivo, apresenta um apetite voraz, necessitando ingerir uma grande quantidade de ração por dia a fim de atender às suas exigências. Por isso, deve-se ficar atento quando da escolha e com o manejo dos comedouros e bebedouros. Com a tendência hoje em se criar frangos em alta densidade e em galpões semi-climatizados, aumenta ainda mais a competição por espaço de bebedouro e principalmente de comedouro. Esta competição, além de proporcionar uma menor ingestão de ração seguida de uma piora no desempenho, contribui para o aumento do aparecimento de lesões sobre a pele e nas patas das aves. Além disso, a piora na qualidade da cama, principalmente pela compactação devido ao aumento de umidade, determina o aparecimento de lesões na pele, pododermatites, calo de peito e hematomas. Também tem sido observado um aumento na incidência de dermatite lombar aos 42 dias de idade quando as taxas de lotação são aumentadas. O mau empenamento, ou empenamento tardio está associado à linhagem e a alta densidade e é também um fator de aumento de lesões na pele e de desuniformidade do lote.

Outras causas importantes de condenação devido ao manejo e falhas no abate são:

- **Mau desenvolvimento:** manejo inadequado dos pintinhos.
- **Caquexia:** está relacionada com a qualidade dos pintos, mau manejo inicial, temperatura, sanidade, consumo de água e consumo de ração, nutrição, taxa de lotação, refugagem na primeira semana. Corrigir o manejo e vacinar contra doença de Gumboro.
- **Desuniformidade:** incubatório, transporte dos pintos, aquecimento e manejo inicial. Uma boa uniformidade é fundamental para permitir um enganchamento regular, sangria regular, facilitar a regulação das máquinas, diminuir a contaminação da carcaça, permitir a padronização dos cortes e facilitar o fluxo de produção, evitando o estoque de carcaça resfriada para alimentar a sala de cortes.
- **Calo de peito:** Calos de peito estão relacionados com o tipo e manejo de cama, ventilação, manejo de bebedouros, densidade, empenamento, problemas de patas, peso, idade, e saúde intestinal.
- **Dermatites, hematomas de peito, coxas, e sobrecoxas:** Dermatites e arranhaduras geralmente estão contaminadas por *Staphilococcus*. O controle é feito através da pulverização com formol a 2%. Os hematomas estão relacionados com a qualidade da cama, alta densidade, empenamento e manejo inadequado de apanha, carregamento, transporte e pendura.
- **Fraturas de pernas, asas, mortalidade:** manejo inadequado de apanha, carregamento e transporte.
- **Pododermatite:** Lesões de patas estão relacionadas com a qualidade e o manejo de cama. A incidência é maior em cama de maravalha e menor em cama de casca de arroz. A nutrição também joga um papel importante, principalmente quando se utilizam rações ou ingredientes que deixam as fezes mais líquidas, ácidas ou pegajosas, como é o caso do uso de farelo de soja e níveis altos de carboidratos. Épocas chuvosas levam a um aumento na incidência de pododermatite, devido à piora na qualidade da cama. Atualmente, o MAPA permite a exportação de patas tipo B para Hong Kong após a retirada do calo com faca, mas não permite o uso de raladores (Circular 599/2010 CGPE/DIPOA).
- **Perda de peso e mortalidade:** A perda de peso e a mortalidade durante o transporte e a espera para o abate estão relacionados com a duração do jejum, com o transporte e com as condições ambientais durante a espera. A perda de peso da granja até a entrada do abatedouro varia de 0,5 a 2%, e daí até a hora do abate de 1 a 0,5%, enquanto que mortalidade na plataforma é de 0 a 1%. Para diminuir o problema, deve-se utilizar ventiladores e pulverizadores no local de

espera. Na plataforma ocorrem muitas perdas por contusões pelo manuseio das caixas durante o descarregamento e a retirada das aves e o enganchamento (contusões nas coxas).

- **Má sangria e lesões hemorrágicas no peito, filezinho e asas:** O atordoamento é uma etapa importante do processo de abate e frequências mais altas preconizadas atualmente pelo Regulamento 1099/209 na União Européia causam aumento nas lesões de peito, filezinho e asa, principalmente hematomas, petequias e hemorragias. O regulamento de bem-estar que entrou em vigor em janeiro de 2013, preconiza os seguintes parâmetros para frangos:

Frequencia (Hz)	Corrente (mA)
< 200	100
200 a 400	150
De 400 a 1500	200

Regulamento CE 1099/2009, Anexo 1, Capítulo 2

Como a incidência de lesões é alta com a aplicação desses parâmetros e o regulamento permite que países terceiros exportadores de carne de aves devem observar requisitos pelo menos equivalentes aos estabelecidos no presente regulamento, a UBABEF encomendou estudos a EMBRAPA e a USP e solicitou a DGSANCO equivalência com um parâmetro brasileiro que aplica frequência de 600 Hz e uma corrente de 110 mA/ave, com um tempo de cuba de 14 segundos. Com isso, e devido a reclamações de outros países, inclusive da Europa, a UE suspendeu temporariamente a aplicação desses parâmetros até novembro de 2013 quando foram negociados novos certificados sanitários.

- **Hemorragias e fraturas da asa:** Estão relacionadas com a apanha, transporte e enganchamento das aves e atordoamento.
- **Arranhões de dorso e coxas:** A causa principal está relacionada com densidade de criação, apanha das aves, taxa número de aves/caixa no transporte, retirada das aves e com o enganchamento.

- **Hematomas:** geralmente são produzidos nas últimas 12 horas de vida do frango. Cerca de 90% dos hematomas no peito são devidos a amontoamentos e choques durante a apanha. Outros fatores são densidade, calor, doenças, cama dura, micotoxinas, manejo da apanha, manejo das caixas, tipos de caixas, aves soltas e enganchamento brusco.
- **Despigmentação e rupturas da pele:** As aves devem entrar mortas na escaldadeira a fim de evitar que ingiram água o que ocasionará uma contaminação interna. O tempo de escalda é de cerca de dois minutos e a temperatura deve ser mantida entre 54 e 56 °C. Temperaturas mais altas causam uma despigmentação indesejável da pele. Os dedos da depenadeira devem ser revisados diariamente a fim de evitar que os mesmos arranquem partes da pele e mesmo a cabeça, além de causar fraturas nas asas na região da articulação das mesmas no peito, deixando o osso exposto.
- **Contaminação:** Entende-se por contaminação a presença de conteúdo intestinal, tanto dentro como fora da carcaça eviscerada. A contaminação ocorre quando o trato digestivo se rompe ou é cortado, ou quando as fezes são expulsas. O material contaminante pode ser alimento, fezes, bile, material de cama ou parede intestinal degradada. A contaminação está diretamente relacionada com o tempo de jejum antes do abate, o qual deve ser de seis a oito horas. Na prática, dependendo da logística de carregamento e transporte, o período de jejum desde a retirada de ração até a pendura das aves acaba sendo de até 12 horas. Nunca se deve retirar a ração e água simultaneamente. Ao se retirar a água, paralisa a passagem do alimento do papo, pró-ventrículo e moela para o intestino. Para que a contaminação seja mínima, é necessário que o intestino esteja vazio; para que isso ocorra basta apenas que o papo esteja vazio por ocasião da apanha das aves. Se o tempo de jejum for excessivo as aves tomarão muita água e ingerirão material de cama; isto resultará em fezes líquidas podendo levar a conclusão errônea de que o jejum foi muito curto. Como regra geral, se a moela apresenta material de cama e pouco ou nada de alimento, significa que o jejum foi excessivo. A presença de certa quantidade de alimento na moela impede que ocorra a penetração de bilis quando ocorre peristaltismo reverso. Depois de 12 horas de jejum as paredes do intestino começam a se debilitar. Com 18 horas de jejum o intestino estará muito débil e se corta, ou se rompe, com muita facilidade. Nesse caso, libera bilis contaminando toda a carcaça. Por meio da Resolução DIPOA 4/2011 o MAPA permitiu a lavagem das carcaças como alternativa ao refile obrigatório, para a retirada da

contaminação fecal. Para a retirada da contaminação biliar, entretanto, o refil com faca continua obrigatório.

- **Miopatia peitoral profunda:** é uma doença muscular degenerativa caracterizada pela necrose e atrofia dos músculos supracoracóides ou músculos peitorais menores (filezinho ou sassami) e não tem causa patológica. Acomete aves de crescimento rápido e de alto rendimento de músculo branco e a maior incidência ocorre nos machos.
- **Papo penduloso:** A incidência da ocorrência varia de 0,1 a 2%, em função dos mix de produção, linhagens, composição de sexos e outros entre as empresas. A origem do problema é genético e para minimizar a ocorrência são utilizadas práticas de manejo como, modulação do consumo alimentar através de programas de luz que regula o comportamento das aves; manejo de arraçoamento para as diferentes fases de criação; qualidade da água de bebida e níveis de cloro suficientes para assegurar a potabilidade; controle de flora gastrointestinal por meio de rigoroso controle de qualidade da matéria prima e da ração e forma física da ração (farelada/peletizada/finos). Como não existe uma padronização quanto a condenação mesma pode ser total ou apenas parcial, fazendo-se o refil, a UBABEF solicitou ao MAPA que a retirada do papo fosse feita antes de entrar na linha de evisceração, momento em que o mesmo pode ser rompido, a fim de diminuir a contaminação cruzada com ingesta.

## Considerações sobre o sistema de inspeção

A legislação brasileira de inspeção deve ser modernizada, mas para que isso seja possível faz-se necessária a revisão do RIISPOA e da Portaria 210. Nas condições atuais do sistema de produção de aves no país não mais se justifica a presença maciça de agentes de inspeção e de veterinários do serviço oficial em uma planta de abate. Se considerados os oficiais e os contratados de acordo com o artigo 102 (conveniados) isso representa cerca de 15% do total de funcionários de uma planta de abate.

A maior parte do trabalho realizado atualmente pelo serviço oficial deve passar para o autocontrole das empresas, como ocorre na maioria dos países. Nessa nova visão, cabe ao serviço oficial auditar os processos e a qualidade dos produtos. Isso se justifica pelo fato de que a maioria das condenações não tem origem patológica e os produtos não trazem risco para a saúde do

consumidor. Cabe a empresa decidir até que ponto algum eventual desvio na qualidade pode afetar a imagem do produto e da empresa. As ferramentas para auditar já existem, uma vez que o DIPOA, por meio da Circular 175 de 15 de maio de 2005, Circular 294 e 176 de 5 de maio de 2006, estabeleceu os autocontroles no abate de aves. Esses programas são uma realidade nos abatedouros com inspeção federal atualmente e são os seguintes:

- Controle de Matérias Primas, Ingredientes e Material de Embalagem;
- Análise de Perigos e Controle de Pontos Críticos – APPCC;
- Procedimento Padrão Higiene Operacional – PPHO;
- Hábitos Higiênicos, Treinamento e Saúde dos Funcionários;
- Procedimentos Sanitários das Operações – PSO;
- Manutenção das Instalações e Equipamentos;
- Vestiários, Sanitários e Barreiras Sanitárias;
- Iluminação;
- Ventilação;
- Água de Abastecimento;
- Águas Residuais;
- Controle Integrado de Pragas;
- Controle de Temperaturas;
- Calibração e Aferição de Controle de Instrumentos de Processo;
- Testes Microbiológicos, Programa Redução de Patógenos – PRP;
- Embasamento para certificação;
- Controle de Adição de Água aos Produtos;
- Bem-estar animal.

As empresas brasileiras fizeram investimentos pesados nos últimos anos para a implantação desses programas de autocontrole e para adequações e modernização das instalações, aquisição ou troca de equipamentos, laboratórios de análises, adoção de novas



tecnologias, melhoria de processos, ampliação e capacitação de recursos humanos para realizar controles.

Também se faz urgente a revisão de nomenclatura e modo de lançamento dos diagnósticos e lesões no SIGSIF a fim de retirar da relação àquelas lesões, achados e enfermidades de menor importância nosográfica e adicionar lesões, achados e enfermidades que se tornaram importantes para os controles estatísticos, bem como a separação das enfermidades que requerem de diagnóstico confirmativo.

Além disso, além de rever os critérios de condenações o MAPA deve incrementar seus programas de treinamento de pessoal a fim de minimizar as disparidades existentes entre plantas. Basta uma rápida olhada nos mapas de condenações em plantas de diferentes empresas, ou de uma mesma empresa em diferentes regiões, para se notar as diferenças gritantes nos números oficiais. Muitas vezes, isso ocorre mesmo dentro de uma mesma planta, em turnos de abate diferentes em um mesmo dia e até mesmo dentro de um mesmo lote abatido em turnos diferentes.

Um bom exemplo para explicar a necessidade da revisão dos critérios de inspeção é a condenação por caquexia. Muitas vezes aves condenadas são normais uma vez que na criação com sexo separado ocorrem erros de sexagem e algumas fêmeas terão, logicamente, um peso menor que os machos. Além disso, devido ao processo de seleção genética famílias diferentes possuem pesos diferenciados e mesmo dentro de uma mesma família existe uma curva normal de distribuição de peso, com aves mais pesadas e mais leves. Isso se deve, muitas vezes, a variações no tamanho do esqueleto e na conformação do peito. Também deve se levar em conta que as condições de manejo e ambiente entre lotes podem resultar no aparecimento de aves com carcaças maiores e menores na linha de abate e evisceração, não significando necessariamente que é resultado de desnutrição ou doença.

Outro exemplo é a condenação por artrite ou tendinite. Pode se tratar de processos inflamatórios, mas na maioria das vezes a origem está relacionada a problemas ósseos clássicos e dos tendões como discondroplasia, condrodistrofia, osteomielite, tenosinovite, ruptura do tendão gastrocnêmio, condriolistese e defeitos de angulação. Além disso, lotes de machos de linhagens

precoces abatidos com peso elevado podem apresentar maior incidência de problemas de aprumos relacionados com a presença de edemas na região do gastrocnêmio, na face posterior da epífise distal da tíbia. Ora, isso é uma disfunção fisiológica e não deveria ser causa de condenação como ocorre hoje na maioria dos abatedouros brasileiros. Outro caso que pode ser considerado um exagero é o da condenação de asas e pernas no caso de colibacilose quando não há comprometimento sistêmico. Nesses casos deveria haver apenas a condenação das vísceras, ou no máximo de dorso. O mesmo raciocínio vale para as condenações torais no caso de escaldagem excessiva, quando deveria ser permitido o aproveitamento dos miúdos e coxas e sobrecoxas ser desossadas. Quanto ao restante da carcaça, deveria ser permitido o aproveitamento condicional para produtos cosidos.

## **Impacto econômico das condenações**

Essa situação tem gerado perdas econômicas expressivas para as empresas e isso é um dos fatores que tem diminuído a competitividade do país nos últimos anos. Como mencionado, os dados de condenações são muito variáveis entre empresas, mas podem-se assumir valores de até 7% de condenações parciais no Brasil, enquanto que em outros países esse valor não passa de 1 a 2%.

## **Referências bibliográficas**

ALMEIDA PAZ, I. C. L., MENDES, A. A., TAKITA, T. S. Comparison of techniques for tibial dyschondroplasia assessment in broiler chickens. Brazilian Journal of Poultry Science, Campinas, v. 7, n.1, 27-31, 2005.

ALMEIDA PAZ, ICL. Problemas locomotores e técnicas de mensuração. pg 128-137 in Proc. Conferência APINCO 2008 de Ciência e Tecnologia Avícolas. FACTA, Santos, Brasil.

BRASIL, Decreto 30.691/52. **Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA)**. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. Publicado no Diário Oficial da União de 07/07/1952, Seção 1, Página 10785.

BRASIL. Portaria n.º 210/98. **Regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves.** Brasília: M.A.A., 1998. Publicado no Diário Oficial da União de 26/11/1998 , Seção 1 , Página 226.

BRASIL, Circular 599/CGPE/DIPOA, de 29 de julho de 2010. **HONG KONG-Exportação de cortes congelados de frango- pés.**

DENADAI, J. C.; MENDES, A. A.; GARCIA, R. G.; ALMEIDA, I.C.L.; MOREIRA, J.; TAKITA, T. S.; PAVAN, A. C.; GARCIA, E. A. Efeito da duração do período de jejum pré-abate sobre rendimento de carcaça e a qualidade da carne do peito de frangos de corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.4, n.2, p.101-109, 2002.

FALLAVENA, L. C. B. Lesões Cutâneas em Frango de Corte: Causas, Diagnóstico e Controle. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. Anais...Campinas : FACTA, 2001, p. 205-216.

GARCIA, R.G.; MENDES, A.A.; GARCIA, E.A.; NÃÃS I.A.; MOREIRA, J.; ALMEIDA, I.C.L.; TAKITA, T.S. Efeito da densidade de criação e do sexo sobre o empenamento, incidência de lesões na carcaça e qualidade da carne de peito de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.1, p.001-009, 2002.

VIEIRA, S. L. Condenações em abatedouro de frangos de corte no Brasil. IN: Anais X Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, SC p.124-128, 2009.

## **REDUÇÃO MICROBIANA EM CARCAÇAS DE FRANGO DE CORTE: ESTUDO COMPARATIVO DO REFILE E LAVAGEM**

**Rodrigo Guilherme Backes<sup>1</sup>, Lenita Moura Stefani<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Mestrando, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, CAV/UDESC*

<sup>2</sup>*Professora Adjunta, Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV-CEO/UDESC) Email: borruia@hotmail.com*

### **Introdução**

A produção brasileira de frangos vem crescendo consideravelmente nos últimos anos, sendo que de 2010 para 2011 o crescimento foi de 6,8%, mantendo o Brasil como terceiro maior produtor e o maior exportador de carne de frango do mundo. Dentre os estados que mais colaboram para tal crescimento está o Paraná, como maior produtor e segundo maior exportador (26,48% das exportações brasileiras), e Santa Catarina o segundo maior produtor e o maior exportador (27,02% das exportações brasileiras) (UBABEF, 2012).

Estes números poderiam ser ainda mais expressivos, pois grandes são as perdas da produção até o consumo. Uma das perdas que afeta consideravelmente a produção são as condenações parciais e/ou totais das carcaças de frango por contaminação fecal, fraturas e contusões na carcaça (SANTANA et al., 2008). Amorim Neto e Miranda (2009) analisando as condenações em um abatedouro de aves no estado de Goiás verificaram que 5,32% das aves abatidas são condenadas. Aristides et al. (2007) verificaram que as condenações parciais de carcaças por contaminação representam 21,20% de todas as condenações, sendo este valor inferior apenas às condenações por contusões e fraturas. Resultado semelhante (22,84%) de condenações parciais por contaminação foi encontrado por Silva e Pinto (2009) na região sul do país. Estes valores são altos comparados com 1,27% de condenações ocorridas por contaminação no Irã (JALILNIA; MOVASSAGH, 2011).

Estas condenações ocorrem, pois o decreto nº 30.691 de março de 1952, artigo 165 menciona em seu parágrafo 1º que devem ser condenadas carcaças ou suas partes que contaminarem por contato com o piso ou qualquer outra forma desde que não seja possível a limpeza completa (BRASIL, 1952). Tal referência reforça o que é mencionado na portaria do MAPA/RIISPOA nº 210 de novembro de 1998 a qual salienta que as carcaças não podem entrar na linha de cortes e pré-resfriamento com qualquer contaminação visível interna ou externa (BRASIL, 1998). É prática rotineira na indústria frigorífica o corte com faca (refile) das partes visivelmente contaminadas por conteúdo fecal. Visando reduzir as perdas por condenação de carcaças parcialmente contaminadas, o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) do Ministério da Agricultura, alterou o decreto nº 30.691 de março de 1952, através da resolução DIPOA nº 4 de 4 de outubro de 2011, autorizou a lavagem das carcaças de frango para remoção da contaminação por conteúdo gastrointestinal visível presente nas superfícies internas e externas das carcaças anterior ao pré-resfriamento (BRASIL, 2011). A descontaminação das carcaças através da lavagem é uma realidade adotada há muitos anos em outros países, como nos Estados Unidos (FSIS/USDA, 2008) e alguns países da Europa (EFSA, 2010).

## **Estudo comparativo entre a lavagem e o refile para descontaminação de carcaças de frango recém-evisceradas**

### **Material e métodos**

#### **Local da coleta**

As carcaças foram coletadas em um estabelecimento frigorífico do estado de Santa Catarina, com inspeção oficial (SIF), com abate diário de aproximadamente 150 mil aves. Foram feitas quatro coletas nos meses de outubro e novembro de 2012, coletando 25 amostras em cada coleta, totalizando 100 amostras no período experimental e 20 amostras por grupo experimental.

## **Amostragem**

Foram analisados cinco grupos diferentes de carcaças. Um grupo consistia de carcaças com contaminação fecal aparente (CC), essas carcaças são distintas das condenadas pelo SIF, apresentando menor contaminação visível, grupo no qual não foi realizado nenhum tratamento, o segundo grupo eram de carcaças que não apresentavam contaminação fecal visível (SCA), o terceiro grupo era formado por carcaças com contaminação fecal aparente submetidas a descontaminação com faca - refil (CR), o quarto grupo era composto por carcaças com contaminação fecal aparente submetidas a descontaminação com lavagem com água clorada a temperatura ambiente (CL) e último grupo formado por carcaças com contaminação submetidas a lavagem aorefile (CLR). Este último grupo representa a realidade adotada na indústria amostrada, onde todas as carcaças ainda são lavadas, e verificando a existência de contaminação visível remanescente, são refiladas para retirada da parte contaminada.

As carcaças dos grupos CC e SCA foram retiradas da nória logo após a etapa de evisceração. Já as do grupo CL foram coletadas logo após a etapa de lavagem, antes da inspeção final do SIF. Para as amostras CLR, as carcaças foram lavadas e posteriormente passaram pela inspeção final onde foi verificada a existência de contaminação visível remanescente, quando foram retiradas da linha de abate e passaram pela etapa de refil feita por profissional habilitado. Este mesmo profissional realizou o refil do grupo CR, onde as carcaças com contaminação aparente foram retiradas da linha principal de abate logo após a evisceração e levadas até o local de reprocessamento para realização do refil. Na Figura 1 estão identificados os pontos de coleta de cada grupo. Já na Figura 3 (A) está identificado o tipo de contaminação nas carcaças amostradas para os grupos com contaminação fecal visível. Em contrapartida a Figura 3 (B) apresenta uma carcaça condenada pelo SIF que não segue na linha de abate, sendo reprocessada e em casos extremos é totalmente condenada.

O grupo CL foi submetido à lavagem em água a temperatura ambiente (20 – 25 °C), utilizando no mínimo 1,5 litros de água potável (cloro residual de 0,5 a 1 ppm) por ave conforme orientação do Regulamento do MAPA nº 210 de 1998. O chuveiro de lavagem

estava instalado após a etapa de evisceração, possuindo 44 bicos de lavagem distribuídos em duas câmaras sendo que a primeira com pressão da água de 2 kgf/cm<sup>2</sup> e a segunda com 4 kgf/cm<sup>2</sup>. O tempo de passagem de cada carcaça no chuveiro foi de 5,5 segundos.

Todas as coletas foram realizadas no período matutino. A cada coleta, todas as carcaças foram provenientes de um mesmo lote, e com tal prática objetivou-se reduzir os efeitos da variabilidade no manejo realizado nas aves antes do abate. Foram abatidos frangos com 46 dias de idade, com peso médio aproximado de 2,4 kg. A velocidade média de abate foi de 8640 aves por hora.

As carcaças foram coletadas e acondicionadas em sacos de polietileno contendo 150 mL de água peptonada esterilizada, sendo em seguida pesadas, conforme descrito por Cox et al. (1981). As carcaças foram agitadas manualmente por aproximadamente um minuto massageando vigorosamente as mesmas com a água peptonada. Após o enxágue as carcaças foram descartadas e o líquido do enxágue foi devidamente identificado de acordo como o grupo amostrado e acondicionado em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável para manter a temperatura baixa minimizando crescimento bacteriano até a chegada das amostras no Laboratório de Microbiologia do Centro de Educação Superior do Oeste CEO/UDESC, onde foram realizadas as análises microbiológicas. O tempo transcorrido entre a coleta e o início das análises microbiológicas foi de aproximadamente uma hora.

### **Análise microbiológica das carcaças**

A metodologia utilizada para contagem de microrganismos mesófilos aeróbios totais foi a descrita conforme Portaria MAPA nº 101 (BRASIL, 1993). Os resultados foram expressos em log<sub>10</sub> UFC/g. Para a contagem de CT foram semeados 0,2 mL da amostra nas diluições 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup> em placas de petri contendo Eosina Azul de Metileno (EMB), espalhando-se a amostra com o auxílio de alça de drigalski, incubando as placas invertidas por 24 horas a 37 °C. Simultaneamente foi feita a semeadura de um mL da amostra 10<sup>-4</sup> em Petrifilm® EC de acordo com a orientação do fabricante. Todas as contagens foram ajustadas para peso da carcaça como

descrito por Isolani (2007), onde o resultado da contagem é dividido pelo fator de diluição (peso da carcaça dividida pelo volume de água peptonada – 150 mL). Todos os resultados foram expressos em  $\log_{10}$  CFU/g.

### **Quantificação de *Salmonella* spp por NMP**

Para quantificação de *Salmonella* spp, foi realizada primeiramente a pesquisa de presença, incubando a diluição  $10^{-2}$  a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, seguida pelo cultivo em meio seletivo Tetrationato (TT) e Selenito de Cistina (SC) incubandoos meios por 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . Os meios foram posteriormente estriados em ágar Rambach (RB) e Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). As placas foram incubadas por 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ , fazendo a leitura das colônias típicas em cada placa. As amostras com colônias características de *Salmonella* spp foram submetidas a quantificação pelo método do NMP (número mais provável) conforme descrito por Vieira et al. (2007) ajustando para peso de carcaça de acordo com a fórmula descrita por Dufrenne, Ritmeester e Van Asch (2001). Foram utilizadas diluições de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  para quantificação. Colônias suspeitas foram submetidas a testes bioquímicos (Lysina Iron Agar–LIA e Triplice Sugar Iron - TSI). Para obtenção do NMP foram contados os tubos positivos para cada amostra em cada diluição, e a combinação dos tubos positivos analisados na tabela para NMP (USDA, 2008), e o resultado expresso em NMP/g.

### **Análise microbiológica da água de lavagem**

Foi realizada a análise microbiológica da água utilizada na lavagem, ondecoletou-se 100 mL de água diretamente dos chuveiros de lavagem, em recipiente esterilizado contendo neutralizante de cloro (tiosulfato sódico). Foi realizada diluição seriada até  $10^{-2}$  partindo da amostra de 100 mL como sendo  $10^0$  conforme metodologia descrita na portaria do MAPA nº 101(BRASIL, 1993).



### **Análise estatística**

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo pacote estatístico Statistical Analysis System (SAS<sup>®</sup>), com significância para  $p < 0,05$ . As médias dos tratamentos foram submetidas ao teste de Tukey para comparação das médias. Inicialmente a análise feita foi comparação das médias agrupando todas as coletas em uma única média, posteriormente foi realizado o desdobramento submetendo as médias de cada coleta a análise de variância.

## **Resultados e discussão**

### **Análise microbiológica das carcaças**

Nas análises realizadas foi possível observar uma grande variação entre as coletas, sendo que nas primeiras duas coletas foram observados valores para mesófilos e coliformes totais maiores que as duas últimas coletas. Segundo Northcutt et al. (2003), as contagens de coliformes totais e mesófilos aeróbios apresentaram grande variação entre estabelecimentos, fato este que pode ser observado neste trabalho onde foram encontradas diferentes médias em todas as coletas. Afirmação que corrobora com as observações de Fletcher, Craig e Arnold (1997), os quais verificaram que diferentes coletas em um mesmo estabelecimento podem ter variação. Isso se deve a diferença nos lotes abatidos, submetidos a diferentes manejos pré-abate. Submetendo os dados a análise de variância foi possível observar que houve influência da coleta sobre os resultados. Desta forma, foi realizado o desdobramento dos dados, já que avaliando de os dados de todas as coletas não observou-se diferença significativa. No desdobramento verificamos que nas coletas 2 e 4 houve diferença significativa para coliformes totais em EMB e mesófilos aeróbios, respectivamente. Assim, podemos afirmar que os resultados na eficiência da lavagem e do refil sofrem influencia da coleta, ou seja, de diversos fatores relacionados ao abate e processamento das aves.

## Mesófilos

Na contagem de mesófilos aeróbios totais não houve diferença significativa entre os grupos avaliados em três das quatro amostragens ( $p \leq 0,05$ ). Porém, na quarta amostragem observou-se diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ). Nesta coleta o grupo CLR apresentou resultados superiores em relação ao grupo CCR (ver Tabela 1), a diferença entre estes grupos foi de 1,2 log UFC/g. Comparando com o grupo controle (CC) o grupo CLR teve uma redução na contagem de 1 log UFC/g para mesófilos. Northcutt et al. (2003) avaliando o processo de lavagem interna e externa de carcaças de frango contaminadas com material fecal nos Estados Unidos, observaram que a lavagem foi eficiente na remoção de mesófilos aeróbios, porém a utilização de cloro na lavagem proporcionou resultados melhores.

Ao contrário das carcaças lavadas e refiladas, as carcaças que foram apenas refiladas tiveram acréscimo de 0,2 log UFC/g. Este aumento na contagem, possivelmente se deve pela contaminação cruzada, onde as luvas e facas carregam microrganismos de uma carcaça para outra. Na Figura 2 é possível visualizar a forma como é feito o refile, evidenciando o contato das luvas com as carcaças. Carrasco et al. (2012) alertam que no processamento de alimentos existem diversas rotas de contaminação cruzada. Já Northcutt et al. (2008) afirmam que a utilização de lavagem das carcaças visivelmente contaminadas propicia redução na contaminação cruzada com outras carcaças, mesma conclusão chegaram Smith, Northcutt e Musgrove (2005), os quais observaram que a lavagem de carcaças não contaminava as carcaças próximas que não apresentavam contaminação antes da lavagem. Outro problema do refile é a maior exposição do músculo na carcaça, já que a pele é removida para retirar a contaminação. A exposição do músculo favorece a aderência e a consequente veiculação destes microrganismos para outras carcaças. Assim é retirada a contaminação visível da carcaça, porém, a contaminação microbiana não é reduzida, podendo até mesmo aumentar, como demonstrado por esta pesquisa. Isso ocorre pela formação do biofilme nas luvas e na faca que não são devidamente esterilizadas. A ocorrência de falhas no processo de higienização poderá dar origem ao desenvolvimento e acumulação de microrganismos nas superfícies e equipamentos e, subsequentemente, à formação de

biofilmes (KUMAR; ANAND, 1998). As superfícies aparentemente limpas tornam-se assim permanentes fontes de contaminação (OMAFRA, 2008).

Entre os grupos CL, SCA e CC não houve diferença significativa, numericamente os grupos CL e SCA foram iguais e com 0,6 log menor em comparação com o grupo CC. Estes resultados diferem dos encontrados por Reagan et al. (1996) e Hajmeer et al. (2004), os quais observaram que a lavagem apenas com água não foi tão eficiente como a retirada através de corte com faca, na remoção de microrganismos em carcaças de bovinos. Porém, Gill, McGinnis e Badoni (1996) verificaram que tanto a lavagem como o refil não foram efetivos na redução de bactérias, assim seria necessário evitar a contaminação, pois a descontaminação sem adição de antimicrobianos não é eficiente para estes autores.

**Tabela 1.** Médias e desvio padrão (DV) da contagem de mesófilos aeróbios totais das amostras obtidas na quarta coleta.

Grupo	Média ( $\pm$ DV)
CLR	3,6 ( $\pm$ 0,36) <sup>a</sup>
CL	4,0 ( $\pm$ 0,23) <sup>ab</sup>
SCA	4,0 ( $\pm$ 0,20) <sup>ab</sup>
CC	4,6 ( $\pm$ 0,53) <sup>ab</sup>
CCR	4,8 ( $\pm$ 0,46) <sup>b</sup>

Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Apesar de estatisticamente não haver diferença entre as carcaças lavadas e carcaças com contaminação, a redução de 0,6 log é expressiva considerando-se o aspecto microbiológico. Smith, Northcutt e Musgrove (2005) observaram redução de 0,1 log CFU/g para mesófilos com diferença significativa pelo teste de t de Student. Já Reagan et al. (1996) verificaram, em bovinos, que a retirada da contaminação com faca reduziu a contagem de mesófilos totais em 1,85 log UFC/g. Essa redução na contagem total de mesófilos pode estar relacionada a bactérias patogênicas. Desta forma a redução

pode ser importante especialmente para pessoas imunodeprimidas, idosos e crianças, categorias estas mais susceptíveis a toxinfecções.

### **Contagem de coliformes totais no EMB**

Comparando todas as coletas realizadas não foi encontrada diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ). Porém quando analisada cada coleta individualmente, observamos que na segunda coleta houve diferença significativa entre os grupos CL e CCR, onde CL apresentou contagem menor que CCR pelo teste Tukey (ver Tabela 2), sendo que a diferença foi de 1,33 log UFC/g, e estes resultados diferem dos encontrados por Franchin et al. (2007). Os autores não observaram diferença significativa entre os grupos lavados e refileados para contagem de coliformes totais, afirmando que a utilização da lavagem e do refile são igualmente aconselháveis para redução de carga microbiana nas carcaças. Do mesmo modo Northcutt et al. (2003) observaram que a lavagem com água pura ou com a adição de cloro não foi eficiente na remoção de coliformes totais em carcaças com contaminação fecal visível. Por outro lado, Smith, Northcutt e Musgrove (2005) verificaram redução significativa de 0,2 log UFC/g de coliformes totais em carcaças contaminadas propositalmente com material fecal. Resultado semelhante foi obtido por Fletcher, Craig e Arnold (1997), os autores verificaram redução na contagem de coliformes totais após o processo de lavagem das carcaças condenadas por contaminação fecal pelo sistema de inspeção norte americano.

A contaminação fecal visível é oriunda em sua maioria do rompimento das vísceras no momento da evisceração. Desta forma, como a lavagem é feita imediatamente após a evisceração, removendo a contaminação visível, não há tempo suficiente para fixação das bactérias na pele das carcaças. Segundo Jimenez et al. (2002) bactérias introduzidas à carcaça durante a evisceração (contaminação fecal) são fracamente aderidas a pele, por que o processo de aderência é dependente de tempo. No caso do refile há possibilidade de ter ocorrido contaminação cruzada, veiculado pelas luvas e facas utilizadas pelo funcionário. A contaminação cruzada ocorre, pois, apesar da higienização da luva poderá ainda assim ocorrer à formação de biofilme, aumentando o crescimento

bacteriano no local e propiciando a dispersão dos microrganismos quando em contato com as carcaças.

Os grupos CLR, SCA e CC não apresentaram diferença significativa entre si. CLR apresentou contagem de 0,19 log UFC/g menor que SCA e CC, porém estatisticamente não diferiram. Esses resultados corroboram com os encontrados por Powell et al. (1995) que também não observaram diferença entre carcaças contaminadas e carcaças sem contaminação visível, sendo essa diferença de 0,92 log CFU/g, para coliformes totais.

**Tabela 2.** Médias e Desvio Padrão (DV) para coliformes totais em EMB, para os dados da segunda coleta.

Grupo	MÉDIA* ( $\pm$ DV)
CL	4,67 ( $\pm$ 0,32) <sup>a</sup>
CLR	5,14 ( $\pm$ 0,60) <sup>ab</sup>
CC	5,33 ( $\pm$ 1,01) <sup>ab</sup>
SCA	5,33 ( $\pm$ 0,42) <sup>ab</sup>
CCR	6,00 ( $\pm$ 0,38) <sup>b</sup>

Médias e desvio padrão dados em log<sub>10</sub> UFC/g.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

O grupo lavado e refilado demonstrou resultados inferiores aos obtidos pelo grupo que foi apenas lavado. Isso demonstra que a utilização do refile após a lavagem, para contagem de coliformes totais, não é recomendada, já que aumentará a contagem microbiana. Essa afirmação é sustentada pelos demais resultados da análise, já que carcaças apenas lavadas foram melhores que aquelas que foram apenas refiladas, e também foram melhores que as lavadas e refiladas, identificando assim que o refile seria o responsável por este resultado inferior deste grupo.

### Resultado de coliformes totais e *Escherichia coli* em Petrifilm®

Utilizando metodologia do Petrifilm® para contagem de coliformes totais, observamos que o grupo CL foi estatisticamente diferente dos grupos CCR e CC ( $p < 0,05$ ) – ver Tabela 3. O processo de lavagem foi eficiente na remoção de coliformes totais, com redução de 0,88 log UFC/g em comparação as carcaças visivelmente contaminadas. O processo de lavagem foi mais eficiente que o refil na remoção de coliformes totais tanto na contagem realizada em EMB como em Petrifilm®. Northcutt et al. (2005) também observaram que a lavagem com água a temperatura ambiente (21,1 °C) foi eficiente na redução de coliformes totais, mesófilos aeróbios e *Campylobacter* spp essa redução foi de 2,1 log CFU/g, sendo que as carcaças do grupo controle (sem contaminação aparente) tinham contagens de 3,6 CFU/g; após a lavagem as carcaças estavam com contagem de mesófilos semelhantes às sem contaminação.

**Tabela 3.** Médias e desvio padrão (DV) para as amostras analisadas em Petrifilm®

Coliformes totais		<i>Escherichia coli</i>	
Grupo	Média (±DV)	Grupo	Média (±DV)
CL	4,38 (±0,48) <sup>a</sup>	CL	4,08 (±0,52) <sup>a</sup>
CLR	4,89 (±0,41) <sup>ab</sup>	SCA	4,55 (±0,66) <sup>ab</sup>
SCA	4,90 (±0,53) <sup>ab</sup>	CLR	4,66 (±0,47) <sup>ab</sup>
CC	5,26 (±0,47) <sup>b</sup>	CC	4,90 (±0,47) <sup>ab</sup>
CCR	5,64 (±0,11) <sup>b</sup>	CCR	5,45 (±0,08) <sup>b</sup>

Médias seguidas de letras iguais não diferiram significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Na contagem de *E. coli* observa-se que o grupo CL foi melhor que o CCR pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Os grupos CLR, CC e SCA não diferiram estatisticamente de CL, porém observa-se redução de 0,82 log UFC/g deste grupo em relação aos grupos CC. Powell et al. (1995) observaram contagens menores de *E. coli* em

carcaças não contaminadas, diferindo dos resultados encontrados neste experimento. Cepas de *E. coli* podem ser patogênicas, desta forma a mínima redução mesmo não significativa estatisticamente é importante se tratando de saúde pública.

Observando-se a Tabela 3, é possível verificar que tanto para coliformes totais como para *E. coli* houve aumento na contagem das carcaças refiladas em comparação as carcaças contaminadas não submetidas a tratamento. Isso é possível pela grande manipulação das carcaças refiladas, pois estas são retiradas da linha de abate com subsequente retirada da parte contaminada com auxílio de facas, para Oliveira et al. (2011) a manipulação é um importante veículo de contaminação de produtos. Os resultados deste trabalho confrontam a afirmação de Delmore et al. (1997) que comparando lavagem com água quente e água fria com refil, verificaram que ambos foram eficientes na remoção de microrganismos das superfícies das carcaças de bovinos.

Os resultados descritos anteriormente se referem a coletas específicas onde houve diferença significativa pelo teste de Tukey. Segundo Fletcher, Craig e Arnold (1997) pelo tamanho da amostra coletada ser pouco expressiva em relação ao total de aves abatidas, a variação entre uma coleta e outra é elevada. Neste projeto as coletas foram realizadas em 4 etapas (dias), sendo que a variação entre as coletas foi elevada, onde nas duas primeiras coletas obtivemos contagens maiores que nas duas últimas coletas para todos os itens avaliados.

A Tabela 4 apresenta os valores médios encontrados em cada grupo de todas as carcaças avaliadas nos quatro períodos. Não foi observada diferença significativa em nenhuma das análises pelo teste de Tukey. Para contagem de coliformes totais em EMB houve redução de 0,22 e 0,12 log UFC/g para os grupos CLR e CL respectivamente quando comparados com o grupo CC (controle). Já o grupo CCR teve contagem de 0,28 log UFC/g superior ao grupo controle. Isso pode ser justificado pela ocorrência de contaminação cruzada, onde a contaminação de uma carcaça pode ser veiculada para outra através das facas e/ou luvas utilizadas para a prática do refil.

**Tabela 4.** Médias com desvio padrão agrupadas por tratamento em cada variável analisada

	<b>Mesófilos</b>	<b>Coliformes totais (EMB)</b>	<b>Coliformes totais (Petrifilm®)</b>	<b><i>E.coli</i> (Petrifilm®)</b>
<b>CC</b>	5,35 ( $\pm 1,13$ )	3,95 ( $\pm 1,03$ )	4,42 ( $\pm 1,02$ )	4,07 ( $\pm 1,17$ )
<b>SCA</b>	4,93 ( $\pm 1,13$ )	3,89 ( $\pm 1,07$ )	4,77 ( $\pm 0,53$ )	4,55 ( $\pm 0,66$ )
<b>CCR</b>	5,21 ( $\pm 1,21$ )	4,23 ( $\pm 1,08$ )	4,18 ( $\pm 1,24$ )	3,93 ( $\pm 1,40$ )
<b>CL</b>	4,95 ( $\pm 1,35$ )	3,83 ( $\pm 0,87$ )	3,73 ( $\pm 0,93$ )	3,51 ( $\pm 0,85$ )
<b>CLR</b>	5,16 ( $\pm 1,52$ )	3,37 ( $\pm 1,06$ )	3,78 ( $\pm 1,28$ )	4,32 ( $\pm 0,78$ )

\*Foram agrupados todos os dados das quatro coletas realizadas

Para mesófilos, observamos que nos três grupos tratados houve redução na contagem, sendo que para CL reduziu 0,40 log UFC/g, para CLR reduziu 0,19 log UFC/g e para CCR reduziu 0,14 log UFC/g. Mesmo com a possibilidade de contaminação cruzada no CCR, a retirada da pele contendo bactérias oriundas da granja, possibilita a redução no número total de bactérias presentes na carcaça. Segundo Powell et al. (1995) carcaças contaminadas apresentam maiores contagens de coliformes totais, *E.coli* e mesófilos comparados a carcaças não contaminadas, da mesma forma o reprocessamento torna as carcaças com contaminação indistinguíveis das sem contaminação aparente (POWELL et al. 1995).

Na contagem em Petrifilm®, observou-se que tanto para coliformes totais como para *Escherichia coli* o grupo CL obteve a maior redução logarítmica. Na contagem de coliformes totais houve redução de 0,69 log UFC/g e para *E. coli* a redução foi de 0,56 log UFC/g.

Outro resultado que se observa é a não diferença estatística de SCA e CC. Isso revela que a contaminação visível muitas vezes não é o maior problema, pois pode representar apenas a presença de muco e epitélio gastrointestinal não havendo a presença de número elevado de coliformes. Bilgili et al. (2002) não encontraram relação entre contaminação microbiana após o resfriamento e



contaminação visível no pré-resfriamento. As altas contagens de coliformes podem ser oriundas da contaminação ocorrida ainda no aviário e ou no transporte, segundo Whyte et al. (2001) o transporte é um dos maiores riscos em relação a contaminação de carcaças.

Apesar da similaridade nas contagens de bactérias entre carcaças com e sem contaminação fecal visível, Fletcher, Craig e Arnold (1997) afirmam que o processo de lavagem é eficiente na remoção da contaminação visível e microbiológica. Tomando por base esta afirmação juntamente com o que é determinado pela legislação brasileira vigente, a qual não permite que carcaças com contaminação visível entrem no pré-resfriamento, é possível afirmar que a lavagem é uma ferramenta para redução de perdas no processamento das carcaças. Porém, Bashor et al. (2004) afirmam que a eficiência da lavagem é diretamente influenciada pela extensão da contaminação da carcaça, temperatura da água, pressão e arranjo dos bicos de aspersão, taxa de fluxo, velocidade da linha de abate e o tipo de antimicrobiano utilizado no processo.

### **Quantificação de *Salmonella* spp por NMP**

Na pesquisa de salmonelas encontramos valores de 89,5% (17/19) de positividade na primeira coleta, 100% (0/30) de ausência na segunda coleta, 16% (4/25) e 8% (2/25) de positividade para terceira e quarta coleta respectivamente, totalizando 23,23% de positividade na amostragem (23/99).

Na primeira coleta onde se verificou a maior positividade, os grupos CL e CCR obtiveram as menores contagens. No grupo CL, 75% das amostras tiveram contagem de 0-10 NMP/g e 25% contagem de 11-110 NMP/g. Já CCR teve 50% de ausência nas amostras e 25% com contagem de 0-10 NMP/g e 25% de 11-100 NMP/g. O pior resultado foi verificado no grupo SCA em que 67% das amostras tiveram contagem de 101-1100 NMP/g. Na terceira coleta apenas o grupo CL teve 100% de ausência nas amostras, o restante dos grupos avaliados (CC, CCR, SCA e CLR) tiveram 80% das amostras sem contaminação de *Salmonella* e 20% com presença desta bactéria, sendo que todos os grupos nesta coleta tiveram contagem de 0-10 NPM/g. Powell et al. (1995) avaliando o efeito da lavagem sobre *Salmonella*, identificaram que carcaças com

contaminação fecal visível tinham 26% de positividade, já carcaças sem contaminação apenas 9% de positividade, com diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ), resultados estes que diferem dos encontrados neste trabalho onde carcaças com e sem contaminação visível não tiveram diferença na positividade. Segundo Fletcher, Craig e Arnold (1997) a presença de contaminação visível nas carcaças não apresenta relação com contagem total de mesófilos ou presença de *Salmonella* spp, ou seja, carcaças com contaminação visível não necessariamente estarão contaminadas com *Salmonella* spp, da mesma forma carcaças que não apresentam contaminação aparente podem estar contaminadas com *Salmonella* spp.

Na quarta coleta os grupos CC, CL e CCR tiveram 100% de ausência na pesquisa de *Salmonella* spp. Já os grupos CLR e SCA tiveram 20% de positividade para *Salmonella* spp e a contagem foram de 0-10 NMP/g.

Com estes resultados é possível afirmar que a lavagem obteve os menores valores de contagens para *Salmonella* spp em comparação com o refile. Do mesmo modo, Northcutt et al. (2008) afirmaram que a lavagem das carcaças imediatamente após a contaminação fecal reduz contagem de carcaças positivas para *Salmonella* spp. O sistema de lavagem de carcaças implantado juntamente com programas como Boas Práticas de Fabricação e APPCC resultam em um eficiente e seguro controle microbiológico (Franchin, Battistella e Vieira, 2010).

### **Análise da água de lavagem**

Foi realizada a análise microbiológica da água utilizada para lavagem das carcaças. Não foram encontrados coliformes totais nem mesófilos aeróbios na água, esse resultado possivelmente ocorre pela utilização por parte da empresa de cloro (1 ppm de cloro residual) na água.

## Conclusão

É possível concluir que a lavagem de carcaças contaminadas com material fecal foi eficaz na redução de contagem de coliformes totais, bem como reduziu a contagem de *Salmonella* spp. O refil apresentou maior contagem microbiana comparada com as carcaças lavadas.

Por fim, conclui-se que o processo de lavagem é mais eficiente que o refil, podendo ser utilizado como alternativa na descontaminação de carcaças de frango. Trabalhos futuros avaliando contagem após o resfriamento das carcaças devem ser realizados para confirmação dos resultados obtidos neste trabalho.

## Considerações finais

A utilização do processo de lavagem de carcaças contaminadas com material fecal é uma alternativa eficaz na redução de agentes microbianos como mesófilos aeróbios, coliformes totais e *Salmonella* spp.

O refil está relacionado com ocorrência de contaminação cruzada através da excessiva manipulação das carcaças, onde as luvas e facas utilizadas no processo veiculam microrganismos de uma carcaça para outra e ainda favorecem o aparecimento de biofilme. De modo geral, pode-se afirmar que utilizar apenas a lavagem é mais eficiente do que associá-la ao refil.

Há grande variação nos dados para contagem de mesófilos, coliformes totais *E.coli* e *Salmonella* spp entre coletas realizadas em dias diferentes e consequentemente de lotes diferentes.

Juntamente com um bom programa de APPCC, a lavagem torna-se uma ferramenta no controle de agentes patogênicos em carcaças de frangos na etapa pós-evisceração. Diversas são as práticas que devem ser adotadas para eliminação ou redução dos microrganismos contaminantes durante o processamento das carcaças, segundo os resultados deste trabalho a lavagem pode ser uma destas práticas.

## Referências

AMORIM NETO, A.A.; MIRANDA, C.C.M. Inspeção de Aves. **Monografia** Pós Graduação Lato Sensu em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal, p.76. Universidade Castelo Branco, Goiânia, 2009.

ARISTIDES, L.G.A. et al. Diagnósticos de condenação que afetam a produtividade da carne de frangos brasileira. **Revista Nacional da Carne**, nº. 368, São Paulo, 2007.

BASHOR, M.P. et al. Effect of carcass washers on campylobacter contamination in large broiler processing plants. **Poultry Science**, v.38, p.1232-1239, 2004.

BILGILI, S. F.; et al. Visible ingesta on prechill carcasses does not affect the microbiological quality of broiler carcasses after immersion chilling. **Journal of Applied Poultry Research**, v.11, p.233–238, 2002.

BRASIL. Resolução DIPOA nº 4, de 4 de outubro de 2011. Autoriza o emprego do sistema de lavagem de carcaças no abate de aves. **Diário Oficial da União**, Seção 1, nº 206, p.3, 2011.

BRASIL. Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 226, 1998.

BRASIL. Portaria nº 101, de 11 de agosto de 1993. Aprova e oficializa os métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 11937, 1993.

BRASIL. Decreto-Lei nº 30.691 de 29 de Março de 1952. Aprova o novo regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 10785, 1952.

CARRASCO, E. et al. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods : A review. **Food Research International**, v. 45, p. 545-556, 2012.

COX, N.A.; THOMSON, J.E.; BAILEY, J.S. Sampling of broiler carcasses for *Salmonella* with low volume water rinse. **Poultry Science**, v.60, p.768-770, 1981.

DELMORE, L.R.G.et al. Hot-water rinsing and trimming/washing of beef carcasses to reduce physical and microbiological contamination. **Journal of Food Science**, v.62, n.2, 1997.

DUFRENNE, J.; RITMEESTER, W.; VAN ASCH, E.D. Quantification of the contamination of chicken and chicken products in the Netherlands with *Salmonella* and *Campylobacter*. **Journal of Food Protection**, v.64, p.538-541, 2001.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on the safety and efficacy of using recycled hot water as a decontamination technique for meat carcasses. **EFSA Journal**. v.8, n.9, 2010. 69p.

FLETCHER, D.L.; CRAIG, E.W.; ARNOLD, J.W. An evaluation of on-line "reprocessing" on visual contamination and microbiological quality of broiler. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, p.436-442, 1997.

FRANCHIN, P.R.; BATTISTELLA, P.M.D.; VIEIRA, C.R. Evaluation of multi-sequential interventions with water to reduce microbial loading as applied to chicken carcasses during slaughtering - a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 66, p.203-214, 2010.

FRANCHIN, P.R.; et al. Eficiência da lavagem de carcaças de frango com contaminação fecal aparente, comparada ao corte das áreas afetadas, para redução de contagem bacteriana. **Revista Higiene Alimentar**, v.21, n.152, p.106-110, 2007.

FSIS/USDA. (2008). Improvements for poultry slaughter inspection. Appendix C – **literature review of the poultry slaughter process**. Disponível em: [http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/NACMPI/Feb2008/Slaughter\\_Appendix\\_C.pdf](http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/NACMPI/Feb2008/Slaughter_Appendix_C.pdf) Acessado em: 13 de maio de 2012.

GILL, C.O.; MCGINNIS, J.C.; BADONI, M. Use of total or *Escherichia coli* counts to assess the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. **Journal of Food Microbiology**, v.31, p.181-196, 1996.

HAJMEER, M.N.; et al. Water, sodium chloride and acidified sodium chlorite effects on *Escherichia coli*O157:H7 and *Staphylococcus aureus* on beef briskets. **Meat Science**, v.68, p.277–283, 2004.

ISOLAN, L.W. Estudo da eficiência da etapa de pré-resfriamento por imersão em água no controle de qualidade microbiológica das carcaças de frango. 83f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **Pós Graduação em Ciências Veterinárias**, Porto Alegre, 2007.

JALILNIA, M.; MOVASSAGH, M. H.A study on causes of poultry carcasses condemnation in East Azerbaijan province (North West of Iran) poultry slaughter house. *Annals of Biological Research*, v.2, n.4, p.343-347, 2011.

JIMÉNEZ, S.M.; SALSÍ, M.S.; TIBURZI, M.C.; PIROVANI, M.E. A comparison between broiler chicken carcasses with and without visible faecal contamination during the slaughtering process on hazard identification of *Salmonella* spp. **Journal of Applied Microbiology**, v.93, p.593–598, 2002.

KUMAR, C. G. & ANAND, S. K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. **International Journal of Food Microbiology**, 42, 9-27.

NORTHCUTT, J. K. et al. Recovery of bacteria from broiler carcasses after immersion chilling in different volumes of water, Part 2. **Poultry Science**, v.87, p.573-576, 2008.

NORTHCUTT, J. K.; et al. Effect of commercial bird washers on broiler carcass microbiological characteristics. **Journal Applied Poultry Research**, v.12, p.435–438, 2003.

NORTHCUTT, J. K. et al. Recovery of bacteria from broiler carcasses after immersion chilling in different volumes of water, part 2. **Poultry Science**, v.87, p.573-576, 2008.

NORTHCUTT, J. K. et al. Microbiological impact of spray washing broiler carcasses using different chlorine concentrations and water temperatures. **Poultry Science**, v.84, p.1648-1652, 2005.

NORTHCUTT, J.K.; et al. Effect of commercial bird washers on broiler carcass microbiological characteristics. **Journal Applied Poultry Research**, v.12, p.435–438, 2003.

OLIVEIRA, A.V.B.; et al. Padrões microbiológicos da carne de frango de corte— referencial teórico. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v.6, n.3, p. 01 – 16, 2011.

OMAFRA (2008). Foods of plant origin cleaning and sanitation guidebook. Ontario. Disponível em: [http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/sanitation\\_guide/csguidebook.htm#biofilm](http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/sanitation_guide/csguidebook.htm#biofilm). Acessado em 27 de Março de 2013.

POWELL, C.; BLANK, G.; HYDAMAKA, A.; DZOGEN, S. Microbiological comparison of inspection-passed and reprocessed broiler carcasses. **Journal Applied Poultry Research**, v.4, p.23-31, 1995.

REAGAN, J.O. et al. Trimming and washing of beef carcasses as a method of improving the microbiological quality of meat. **Journal of Food Protection**, v.59, p.751–756, 1996.

SANTANA, A.P. et al. Causes of condemnation of carcasses from poultry in slaughterhouses located in state of Goiás Brazil. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2587-2592, 2008.

SILVA, V.A.M.; PINTO, A.T. Levantamento das condenações de abate de frango e determinação das causas mais prevalentes em um frigorífico de Santa Catarina. In: Congresso Brasileiro de Avicultura, **Anais...** Porto Alegre:UFRGS, 2009.

SMITH, D.P.; NORTHCUTT, J.K.; MUSGROVE, M.T. Microbiology of contaminated or visibly clean broiler carcass processed with an Inside-Outside Bird Washer. **Journal of Poultry Science**, v.4, n.12, p.955-958, 2005.

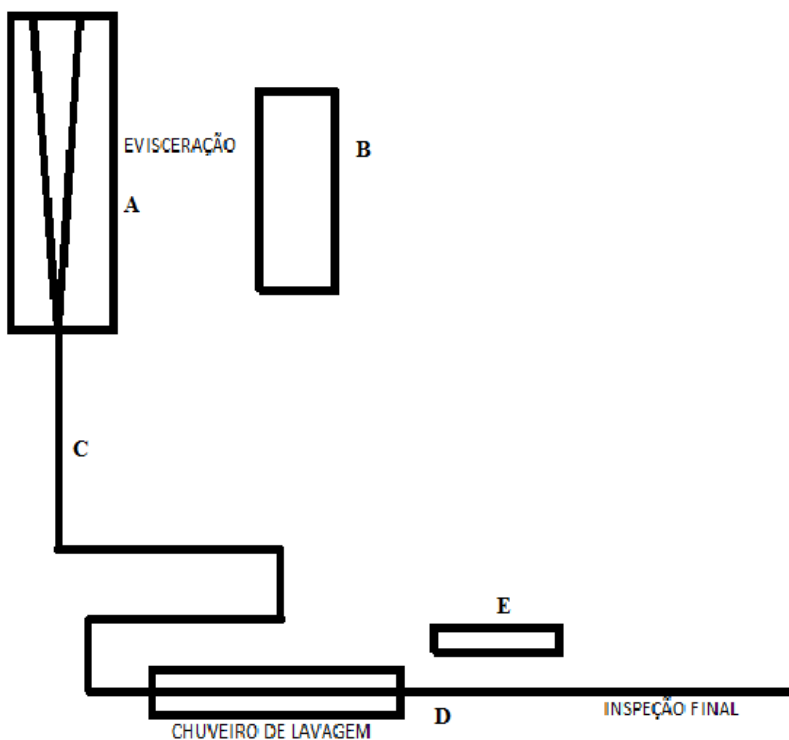
UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA – UBABEF. **Relatório Anual 2011 – 2012**. São Paulo: Terra Comunicação, 2012.

USDA. Most Probable Number procedure tables. Laboratory quality assurance division (LQAD), 2008.

VIEIRA, V.R. et al. Número mais provável (NMP) de *Salmonella* sp em cecos de frangos de corte e correlação com a produção linfocitária bursal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.1, p.49-53, 2007.

WHYTE, P.; et al. The effect of transportation stress on excretion rates of campylobacters in market-age broilers. **Poultry Science**, v.80, p.817–820, 2001.

## Apêndices



**Figura 1.** Ponto A – local da evisceração das aves; Ponto B – condenação total e parcial pelo SIF, e refil de carcaças contaminadas; Ponto C - corresponde ao local de coleta dos grupos CC e SCA; Ponto D – local da coleta das carcaças lavadas; Ponto E – Local do refil após a lavagem, onde foram coletadas as carcaças do grupo CLR; \*Grupo CR foi coletado no ponto C e levado diretamente para o ponto E onde foi refilada





**Figura 2.** Etapa do refilê após o processo de lavagem. A seta mostra o contato das luvas do manipulador com a carcaça evidenciando possível contaminação cruzada neste processo



**Figura 3.** Imagem A mostra indicado pela flecha o local e tipo de contaminação utilizado em todos os grupos com contaminação fecal visível. A imagem B representa as carcaças que são condenadas pelo SIF por excesso de contaminação; estas carcaças são retiradas da linha e reprocessadas com a remoção da contaminação através do refilê ou em casos extremos a carcaça é condenada e descartada

## **GRÃOS: PRESENTE E FUTURO**

**André Debastiani**

O material não foi recebido em tempo hábil para publicação nos anais.

## **COCCIDIOSIS – NEW TRENDS FOR CONTROL**

**Hyun Soon Lillehoj**

*Animal Parasitic Diseases Laboratory  
Beltsville Agricultural Research Center  
Agricultural Research Service-United States Department of Agriculture  
Beltsville, MD 20705, USA*

With the increasing human population growth and the demand for high protein poultry meat products, poultry sectors including industry, government, and academia are confronted with a new array of challenges, such as global food security, climate change, emerging infectious diseases, regulatory ban of antimicrobials, high-intensity production conditions, and waste management. Infectious diseases represent a major challenge in sustaining the agriculture system. Although the rapid progress in the poultry production system that we witnessed during the last half century was partly due to the use of antibiotics growth promoters (AGPs), frequent sub-therapeutic use of AGPs in agriculture has raised many concerns with respect to human health due to the potential occurrence of resistance among pathogenic bacteria and parasites. Accordingly, scientific evidence-based publications are supporting the possibility of sustaining intensive modern farming without the use of AGPs, especially in the area of disease control. These drug-free biocontrol approaches for reducing bacterial, viral and parasitic pathogens in food animal production may include recombinant or hyperimmune therapeutic antibodies, pre- and probiotics, bioactive phytochemicals (herbal extracts and volatile oils), and molecules with anti-microbial functions such as antimicrobial peptides, defensins, bacteriophages, bacteriophage lysins, or other naturally occurring antibacterial lytic enzymes, such as bacteriocins. This presentation will review the recent progress in developing alternative strategies to control the enteric protozoan parasites causing coccidiosis.

## Introduction

Coccidiosis is an ubiquitous intestinal protozoan infection of poultry which seriously impairs the growth and feed utilization of infected animals (Shirley and Lillehoj, 2012; Lillehoj and Lillehoj, 2000). Conventional disease control strategies rely heavily on chemoprophylaxis costing the industry large amounts of money. The existing vaccines comprise live virulent or attenuated *Eimeria* strains with limited scope of protection against an ever evolving and widespread pathogen. The continual emergence of drug resistant strains of *Eimeria*, coupled with the increasing regulations and bans on the use of anticoccidial drugs in commercial poultry production, urges the need for novel approaches and alternative control strategies. Due to the complexity of the host immunity and the parasite life cycle, a comprehensive understanding of the host-parasite interactions and protective immune mechanisms becomes necessary for successful prevention and control practices. Recent progress in functional genomics technology has facilitated the identification and characterization of host genes involved in immune responses as well as parasite genes and proteins that eliciting protective host response (Kim et al., 2008; Kim et al., 2010; Kim et al., 2011).

While natural infection with *Eimeria* spp. induces immunity, vaccination procedures on a commercial scale have shown limited effectiveness and disease control remains largely dependent on routine use of anti-coccidial drugs. Available live vaccines are composed of either virulent or attenuated strains with the major disadvantage which consists of the large number of live parasites making them laborious and costly to produce. Although live oocyst vaccines represent a limited but useful alternative to anticoccidial drugs, a vaccine composed of parasite antigens/antigen-encoding genes that elicit specific immunity is eminently preferable. While it would be cost-effective to produce recombinant vaccines (proteins or DNA), the difficulty remains to identify which antigens or genes are responsible for eliciting protective immunity and how these recombinant vaccines should be delivered and presented to the bird's immune system. Also, such subunit vaccines would eliminate the danger of emerging resistant strains which encounter the live vaccines but until efficient vaccines become commercially available, the poultry industry is forced to rely upon prophylactic chemotherapy

to control the disease. Further, the introduction of alternative prevention/treatment measures, such as non-chemical feed supplements that effectively enhance productivity and non-specific immunity, may help limit the use of anticoccidials. However, the lack of efficient vaccines, the increasing incidence of drug resistant strains, and the escalating public anxiety over chemical residues in meat and eggs mandate the development of alternative control methods.

### **Innate and acquired immune responses to *Eimeria***

A comprehensive understanding of protective immunity to coccidiosis is required before we can develop alternative strategies to control coccidiosis. Although both circulating and secretory antibodies, specific for coccidia parasites, have been detected in serum, bile and intestine (Lillehoj and Ruff, 1987; Yun et al., 2000), the antibody titers in serum and intestine do not correlate with the level of protection after oral infection with coccidia (Lillehoj and Ruff, 1987). In general, antibodies are the hallmark of host immune response to *Eimeria* parasites, but do not seem to be involved in protection against coccidiosis (Lillehoj and Lillehoj, 2000). Extensive experimental evidence supports the notion that immunity mediated by lymphocytes and their secreted products, such as cytokines, mediates antigen-specific protection against challenge infection with *Eimeria* (Lillehoj and Lillehoj, 2000; Lillehoj et al., 2004; Lillehoj et al., 2012). In contrast to the plethora of mammalian cytokines, only a few chicken homologs have been described; the major ones including IFN- $\gamma$ , IL-1, 2, 6 (Schneider et al., 2001), 8, and 15 (Lillehoj et al., 2004; Staeheli et al., 2001). More recently, a series of new chicken cytokines and their receptors (Min et al., 2002; Jeong et al., 2011; Jeong et al., 2012) have been described, including IL-17 (Min and Lillehoj, 2002; Yoo et al., 2009), 18 (Schneider et al., 2000), 16 (Min and Lillehoj, 2004), 12 (Degen et al., 2004), and Th2-type cytokines, such as IL-4, 5 (Koskela et al., 2004), IL-10 (Rothwell et al., 2004), 13 and the granulocyte-macrophage colony-stimulatory factor (GM-CSF) (Avery et al., 2004). The IL-17 family cytokines are the newest cytokines described recently and have been associated with Th17 CD4<sup>+</sup> T cell population which is distinct from the classical Th1 and

Th2 lymphocyte lineages (Iwakura, 2011). Although traditionally thought of as a component of adaptive immunity, Th17-related cytokines are now recognized as part of the rapid response that develops during the initial phases of immune system activation. Once secreted, these cytokines, and others, regulate the interactions between mucosal epithelia and their associated lymphocytes to eradicate invading pathogens, and to restore immune homeostasis. In the case of avian coccidiosis, the immunoregulatory roles of the newly described proinflammatory IL-17 cytokine family in the host response to parasite infection deserves continued study (Min et al., 2013). Involvement of multiple cytokines in different stages of coccidia infection supports a notion that host immune response to coccidiosis is cell-mediated and complex (Hong et al., 2006). The complexity of cytokine response associated with different species of *Eimeria* infections was investigated using a genome-wide transcriptional microarray (Kim et al., 2011).

## **New control strategies against coccidiosis**

Recent studies documented that the dietary immunomodulation of gut immunity in broiler chickens using natural dietary supplements, such as TLR ligands, DFMs and plant-derived phytochemicals that interact with innate sensing molecules to stimulate innate immunity, is a promising alternative strategy that can be applied to many infectious diseases besides coccidiosis where traditional prevention methods show limitations (Lillehoj and Lee, 2012). Furthermore, the underlying immune mechanisms involved in various dietary strategies using TLR ligand-, DFM- and plant phytochemical-mediated immune enhancement of innate immunity should be investigated in order to maximize its effect and to develop a rational synergistic approach for disease control. Some examples of the immune modulation strategies which we have been developing to increase host protective immunity to coccidiosis and to mitigate the use of antibiotics in poultry production include molecular vaccine (Jang et al., 2010; Jang et al., 2011a, 2011b, 2011c), probiotics (Lee, et al., 2010a, 2010b), passive immunization using hyperimmune IgY antibodies (Lee et al., 2009a, 2009b) and dietary immune modulation using plant-derived phytonutrients (Lillehoj et al., 2011; Lee et al., 2007, 2008, 2009, 2010a, 2010b, 2011a, 2011b).

One of the initial steps triggering the innate immune response involves germ-line encoded, highly conserved innate immune sensing molecules of PRRs which include TLRs, nucleotide-binding oligomerization domain proteins (NODs), retinoid-inducible gene 1 (RIG-1) and C-lectin binding receptors. *Eimeria* parasites, the causative pathogens of coccidiosis, contain several components which are stimulatory for immune cells, and they activate innate immunity and inflammatory response. In 2005, our laboratory (Lillehoj, 2004) showed that a conserved antigen of sporozoites of *Eimeria*, profilin, is a parasite PAMP which stimulates T-lymphocytes and induces IFN- $\gamma$  production. Recently, a significant effect of the oil-based ISA 71 VG, or aqueous nanoparticle-based Montanide IMS 1313 N VG (IMS 1313) adjuvant on recombinant vaccination against coccidiosis was demonstrated (Jang et al., 2011a). These latest studies have opened other doors for the development of recombinant vaccines against coccidiosis and illustrate the importance of elucidating the underlying molecular mechanism of vaccination.

Commensal bacteria on the intestinal mucosa contain many probiotics ligands (such as long surface appendages, polysaccharides and lipoteichoic acids) which can communicate with PRRs inducing downstream signaling pathways that lead eventually to probiotic (health-promoting) effects. Direct-fed microbials (DFM) and their associated ligands can modulate host innate immune response. We have recently evaluated several field isolates of *B. subtilis* strains by the continuous feeding of young broiler chickens with the spore-supplemented standard poultry diet to investigate the probiotic effects of *Bacillus* strains. Depending on the *B. subtilis* strain, feeding diets supplemented with *B. subtilis* spores increased the various intestinal intraepithelial T cell subpopulations, cytokine mRNA levels, and macrophage function. Following an *E. maxima* challenge infection, DFM-fed chickens showed an enhanced disease resistance with higher body weight gain and decreased intestinal lesions as compared with the uninfected control birds (Lee et al., 2010a, 2010b). Detailed immune pathways that were affected by *Bacillus* treatment were further examined using a high-throughput gene expression analysis. Various immune-related genes, especially ones associated with the inflammatory response, were up-regulated in the gut of probiotic-treated chickens.



One promising new avenue to achieve this goal is the use of natural foods and herbal products to enhance host defense against microbial infections and tumors. A growing body of scientific evidence demonstrates the health-promoting effects of plant-derived phytochemicals, chemical compounds derived from plants or fruits. "Phytonutrients" refer to phytochemicals or compounds from edible plants that have been used as health-promoting agents by many cultures for several millennia. In 400 B.C.E., Hippocrates prescribed willow tree leaves (containing salicylic acid) to abate fever. There is abundant evidence from epidemiological studies that phytochemicals can significantly reduce the risk of cancer and may reduce high blood pressure, pain, and asthma. The most popularly used drug for cancer chemotherapy worldwide is Taxol (paclitaxel), a phytochemical initially extracted and purified from the Pacific Yew tree. Taxol possesses anti-viral, anti-bacterial, and anti-cancer properties. Many other phytochemicals with potent medicinal properties are currently in clinical trials for treatment of a variety of diseases. Lycopene, for example, from tomatoes is in clinical trials for cardiovascular diseases and prostate cancer. Its beneficial effects may be due to its anti-oxidant and anti-inflammatory effects. While numerous studies have showed disease prevention or immune enhancing effects resulting from oral feeding of plants, only a few reports have examined the specific effects of plant-derived phytochemicals on gut defenses. The intestinal mucosal system plays a central role in the exclusion and elimination of harmful dietary substances in humans and animals. Part of the intrinsic gut defense mechanisms are mediated by the lymphoid system and the intestine contains a relatively large component of lymphatic tissues.

Recent studies from our laboratory (Lillehoj et al., 2011) provided clear evidence that the dietary supplements of natural phytochemicals activate innate immunity in poultry and, in particular, enhanced protective immune responses against avian coccidiosis. Phytochemicals are plant- or fruit-derived chemical compounds which possess the health benefits including promotion of tumor killing and the increased resistance to infectious diseases caused by bacteria, virus and parasites. However, very limited information is available on the mode of action of most of health-promoting plant phytochemicals. Therefore, in order to obtain a basic understanding of how dietary supplements, such as plant and fruit extracts, exert

immunostimulatory effects in poultry, we carried out *in vitro* and *in vivo* feeding trials using an intestinal protozoan disease model, avian coccidiosis. In various *in vitro* studies, culture of chicken spleen lymphocytes with crude extracts from milk thistle, turmeric, shiitake and reishi mushrooms, persimmon, tomato, safflower leaf, plum fruit, and cinnamaldehyde induced significantly higher cell proliferation compared with the untreated control cells. Stimulation of chicken macrophages with crude extracts of milk thistle, shiitake and reishi mushrooms, persimmon, raspberry, safflower leaf, plum fruit, and cinnamaldehyde resulted in a robust nitric oxide production to the levels that were similar with those induced by recombinant chicken IFN- $\gamma$ . Most of the phytochemical extracts and cinnamaldehyde inhibited the growth of chicken tumor cells *in vitro*. The levels of mRNAs encoding IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-18, and tumor necrosis factor superfamily member 15 (TNFSF15) were enhanced in macrophages that were treated with extracts of turmeric or shiitake mushroom as compared with the untreated control (Lee et al., 2009, 2010b, 2011a).

Cinnamaldehyde also directly reduced the viability of *Eimeria tenella* parasites at 10 and 100  $\mu\text{g/ml}$  ( $P<0.05$  and  $P<0.001$ , respectively), as compared with the media controls (Lee et al., 2011a). The effects of plant extracts on enhancing the various *in vitro* parameters of protective immunity have been positively correlated with their ability to protect against microbial infections. In several *in vivo* trials, the feeding of broiler chickens with diets supplemented with extracts of mushroom, safflower, plum, and cinnamaldehyde consistently enhanced innate immunity and provided enhanced protection against live, oral parasite challenge infections. For example, mushroom extracts and cinnamaldehyde significantly protected chickens against weight loss characteristically seen during coccidiosis and promoted parasite killing as indicated by reduced fecal oocyst shedding. Dietary supplementation of young broiler chickens infected with *Eimeria acervulina* using plum, safflower leaf extracts, *curcuma*, *capsicum*, and cinnamaldehyde increased body weight gain, reduced fecal oocyst shedding, and increased cell-mediated immunity as measured by the transcriptional changes in key cytokines such IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-15, and IFN- $\gamma$  (Lee et al., 2006, 2008, 2009, 2010a, 2011a).

Furthermore, combination of two phytonutrient mixtures, VAC (carvacrol, cinnamaldehyde, and capsicum oleoresin), and MC (capsicum oleoresin and turmeric oleoresin), were evaluated for their effects on chicken immune responses following immunization with a recombinant *Eimeria* profilin protein. Following immunization and infection, chickens fed the VAC- or MC-supplemented diets showed increased body weights, greater profilin antibody levels, and/or greater lymphocyte proliferation as compared with non-supplemented controls. Immunized chickens fed the MC-supplemented diet exhibited increased MHC class II<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, TCR1<sup>+</sup>, or TCR2<sup>+</sup> T cells as compared with nonsupplemented controls while chickens on the VAC-containing diet displayed an increase in K1<sup>+</sup> macrophages. Finally, the dietary supplementation with VAC or MC alters immune parameters following recombinant protein vaccination and shows vaccine-stimulated immunity against avian coccidiosis (Lee et al., 2011 b).

## Conclusions

In view of increasing consumers' concerns about drug residues in the food chain, the poultry industry will eventually discover alternative methods to control economically important avian diseases. Chickens will continue to provide a major and increasing supply of the world's animal protein. It is hard to imagine disease control in the field without the use of anticoccidial drugs, but it is probable that the current methods of control will continue unabated and supplemented with drug-free alternatives. There are, however, increasingly negative political views towards in-feed medication of livestock (especially within Europe) and an overall increasing negative view on the use of prophylactic chemotherapy provides a significant spur for work on the immunological control of avian coccidiosis. Application of the recently described innovative technology in immunomodulation and vaccination may lead to the development of alternatives to prophylactic medication. With rapidly developing technologies in functional genomics and computational biology, it is anticipated that new paradigms for coccidiosis control will be formulated. It is possible that the use of genetic tools could become one way of combating parasites, in synergy with other strategies of coccidiosis control such as vaccination, nutrition, and

management.

## References

Shirley, MW, Lillehoj, HS. 2012. The long view: A selective review of 40 years of coccidiosis research. *Avian Pathology*. 41:(2).111-121.

Lillehoj HS, Lillehoj EP. 2000. Avian coccidiosis. A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies. *Avian Dis* 44:408-425.

Kim CH, Lillehoj HS, Bliss TW, Keeler CL, Hong YH, Park DW, Yamage M, Min W, Lillehoj EP. 2008. Construction and application of an avian intestinal intraepithelial lymphocyte cDNA microarray (AVIELA) for gene expression profiling during *Eimeria maxima* infection. *Vet Immunol Immunopathol* 124:341-354.

Kim CH, Lillehoj HS, Hong YH, Keeler CL, Lillehoj EP. 2010. Comparison of global transcriptional responses to primary and secondary *Eimeria acervulina* infections in chickens. *Dev Comp Immunol* 34:344-351.

Kim, DK, Lillehoj, HS, Min, WG, Kim, CH, Hong, YH, and Lillehoj, EP. 2011. Comparative microarray analysis of intestinal lymphocytes following *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, or *E. tenella* infection. *PlosOne* V6:e27712.

Lillehoj HS, Ruff, MD, 1987. Comparison of disease susceptibility and subclass-specific antibody response in SC and FP chickens experimentally inoculated with *Eimeria tenella*, *E. acervulina*, or *E. maxima*. *Avian Dis* 31:112-119.

Yun CH, Lillehoj HS, Zhu J, Min W. 2000. Kinetic differences in intestinal and systemic interferon-gamma and antigen-specific antibodies in chickens experimentally infected with *Eimeria maxima*. *Avian Dis* 44:305-312.

Lillehoj, HS, Min, W, Dalloul, RA. 2004. Recent progress on the cytokine regulation of intestinal immune responses to *Eimeria*. *Poult. Sci.* 2004. 83, 611-623.

Lillehoj, HS, Lee, KW. 2012. Immune modulation of innate immunity as alternatives-to-antibiotics strategies to mitigate the use of drugs in poultry production. *Poultry Science*. 91(6):1286-91.

Schneider, K, Klaas, R, Kaspers, B, Staeheli, P 2001 Chicken interleukin-6. cDNA structure and biological properties. *Eur J Biochem* 268:4200-4206.

Staeheli, P, Puehler, F, Schneider, K, Gobel, TW, Kaspers, B. 2001. Cytokines of birds: conserved functions—a largely different look. *J Interferon Cytokine Res* 21:993-1010.

Lillehoj, HS, Min, W, Choi, KD, Babu, US, Burnside, J, Miyamoto, T, Rosenthal, BM, Lillehoj, EP. 2001. Molecular, cellular, and functional characterization of chicken cytokines homologous to mammalian IL-15 and IL-2. *Vet Immunol Immunopathol* 82:229-244.

Min, W., and Lillehoj, HS. 2002. Isolation and characterization of chicken interleukin-17 cDNA. *J Interferon Cytokine Res* 22:1123-1128.

Jeong, J, Lee, C, Yoo, J, Koh, PO, Kim, YH, Chang, HH, Choe, NH, Lillehoj, HS, Min, W. 2011. Molecular identification of duck and quail common cytokine receptor  $\gamma$  chain genes. *Vet Immunol Immunopathol*. 15;140(1-2):159-65.

Jeong, J., Kim, W.H., Yoo, J., Lee, C., Kim, S., Cho, J.H., Jang, H.K., Kim, D.W., Lillehoj, H.S., Min, W. 2012. Identification and Comparative Expression Analysis of Interleukin 2/15 Receptor  $\beta$  Chain in Chickens Infected with *E. tenella*. [PLoS One](#). 7(5):e37704. Epub 2012 May 25.

Schneider K, Puehler F, Baeuerle D, Elvers S, Staeheli P, Kaspers B, Weining, KC. 2000. cDNA cloning of biologically active chicken interleukin-18. *J Interferon Cytokine Res* 20:879-883.

Min, W, Lillehoj, HS. 2004. Identification and characterization of chicken interleukin-16 cDNA. *Dev Comp Immunol* 28:153-162.

Yoo, JM, Jang, SI, Kim, S, Cho, JH, Lee, HJ, Rhee, MH, Lillehoj, HS. and Min, WG. 2009. Molecular cloning and characterization of duck interleukin-17. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 132:318-322.

Degen, WG, Van Daal, N, Van Zuilekom, HI, Burnside, J, Schijns, VE. 2004. Identification and molecular cloning of functional chicken IL-12. *J Immunol* 172:4371-4380.

Koskela, K, Kohonen, P, Salminen, H, Uchida, T, Buerstedde, JM, Lassila, O. 2004. Identification of a novel cytokine-like transcript differentially expressed in avian  $\gamma\delta$  T cells. *Immunogenetics* 55:845-854.

Rothwell, L, Young, JR, Zoorob, R, Whittaker, CA, Hesketh, P, Archer, A, Smith, AL, Kaiser, P. 2004. Cloning and characterization of chicken IL-10 and its role in the immune response to *Eimeria maxima*. J Immunol 173:2675-2682.

Avery, S., L. Rothwell, W. D. Degen, V. E. Schijns, J. Young, J. Kaufman, and P. Kaiser. (2004). Characterization of the first nonmammalian T2 cytokine gene cluster: the cluster contains functional single-copy genes for IL-3, IL-4, IL-13, and GM-CSF, a gene for IL-5 that appears to be a pseudogene, and a gene encoding another cytokinelike transcript, KK34. J Interferon Cytokine Res 24:600-610.

Iwakura, Y. et al. (2011) Functional specialization of interleukin-17 family members. Immunity 34, 149–162.

Min, W. and Lillehoj, H.S. 2013.Recent progress in understanding host immunity to avian coccidiosis: IL-17 family cytokines as the sentinels on the intestinal mucosa. Dev. Comp. Immuno. In press.

Hong, Y.H., Lillehoj, H.S., Lillehoj, E.P., and Lee, S.H. 2006. Changes in immune-related gene expression and intestinal lymphocyte subpopulations following *Eimeria maxima* infection of chickens. Vet. Immunol. Immunopathol. 114, 259-272.

Jang SI, Lillehoj HS, Lee SH, Lee KW, Park MS, Bauchan GR, et al. 2010. Immunoenhancing effects of Montanide™ ISA oil-based adjuvants on recombinant coccidian antigen vaccination against *Eimeria acervulina* infection. Vet Parasitol. 172, 221-228.

Jang SI, Lillehoj HS, Lee SH, Lee KW, Lillehoj EP, Bertrand F, Dupuis L, Deville S. 2011a. Montanide™ IMS 1313 N VG PR nanoparticle adjuvant enhances antigen-specific immune responses to profilin following mucosal vaccination against *Eimeria acervulina*. Vet Parasitology. 182:163-170.

Jang, S.I., Lillehoj, H.S., Lee, S.H., Lee, K.W., Lillehoj, E.P., and Deville, S. 2011b. Montanide™ ISA 71 VG adjuvant enhances antibody and cell-mediated immune responses to profilin subunit antigen vaccination and promotes protection against *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella*. Exp. Par. 127, 178-183.

Jang, Seung I. Jang, Hyun S. Lillehoj, Sung Hyen Lee, Kyung Woo Lee, Erik P. Lillehoj, François Bertrand, Laurent Dupuis, Sébastien Deville. 2011c. Mucosal Immunity against *Eimeria acervulina* Infection in Broiler Chickens Following Oral Immunization with Profilin in Montanide™ Adjuvants. Exp Par 129:36-41.

Lee, K W., Lillehoj, H.S. and Siragusa, G.R. Direct-Fed Microbials and Their Impact on the Intestinal Microflora and Immune System of Chickens. Poul. Sci. 47:106-114. 2010a.

Lee, K.W., Lillehoj, H. S., Li, G. X., Lee, S. H., Jang, S. I., Dong, X. J., Lillehoj, E. P., and Siragusa, G. R. 2010b. Effect of *Bacillus*-Based Direct-Fed Microbials on *Eimeria maxima* Infection in Broiler Chickens. Cli. Immunol. Micro. Infect. Dis. 33:e105-10.

Lillehoj, H.S., Kim, D.K., Bravo, D.M., and Lee, S. H. Effects of dietary plant-derived phytonutrients on the genome-wide profiles and coccidiosis resistance in the broiler chickens. BMC Proc. 3;5 Suppl 4:S34. 2011a.

Lee, S. H., Lillehoj, H.S., Park, D.W., Jang, S.I., Morales, A., Garcia, D., Lucio, E., Larios, R., Victoria G., Marrufo, D., and Lillehoj, E.P. 2009a. Induction of passive immunity in broiler chickens against *Eimeria acervulina* by hyperimmune egg yolk immunoglobulin Y. Poul Sci. 88:562-566.

Lee, S. H., Lillehoj, H.S., Park, D.W., Jang, S.I., Morales, A., Garcia, D., Lucio, E., Larios, R., Victoria G., Marrufo, D., and Lillehoj, E.P. 2009b. Protective effect of hyperimmune egg yolk IgY antibodies against *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* infections. Vet. Parasitology. 163:123-12.

Lee SH, Lillehoj HS, Chun HK, Tuo W, Park HJ, Cho SM, Lee YM, Lillehoj EP 2007 In vitro treatment of chicken peripheral blood lymphocytes, macrophages, and tumor cells with extracts of Korean medicinal plants. Nutr Res 27:362-366.

Lee SH, Lillehoj HS, Lillehoj EP, Cho SM, Park DW, Hong YH, Chun HK, Park HJ 2008 Immunomodulatory properties of dietary plum on coccidiosis. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 31:389-402.

Lee SH, Lillehoj HS, Chun HK, Park HJ, Cho SM Lillehoj EP 2009a In vitro Effects of Methanol Extracts of Korean Medicinal Fruits (Persimmon, Raspberry, Tomato) on Chicken Lymphocytes, Macrophages, and Tumor Cells. J Poult Sci 46:149-154.

Lee SH, Lillehoj HS, Cho SM, Park DW, Hong YH, Lillehoj EP, Heckert RA, Park HJ Chun HK 2009b Protective effects of dietary safflower (*Carthamus tinctorius*) on experimental coccidiosis. J Poult Sci 46:155-162.

Lee SH, Lillehoj HS, Hong YH, Jang SI, Lillehoj EP, Ionescu C, Mazuranok CL, Bravo D 2010a *In vitro* effects of plant and mushroom extracts on immunological function of chicken lymphocytes and macrophage. Brit Poultry Sci 51:213-221.

Lee SH, Lillehoj HS, Jang SI, Kim DK, Ionescu C Bravo D 2010b Effect of dietary *curcuma*, *capsicum*, and *lentinus*, on enhancing local immunity against *Eimeria acervulina* infection. J Poult Sci 47:89-95.

Lee SH, Lillehoj HS, Jang SI, Lee KW, Park MS, Lillehoj EP, Bravo D 2011a Cinnamaldehyde enhances *in vitro* parameters of immunity and reduces *in vivo* infection against avian coccidiosis. Brit J Nutr 106:862-869.

Lee SH, Lillehoj HS, Jang SI, Lee KW, Bravo D, Lillehoj EP 2011b Effects of dietary supplementation with phytonutrients on vaccine-stimulated immunity against infection with *Eimeria tenella*. Vet Parasitol 181:97-105.

Lillehoj, H. S., Ding, X. C., Quiroz, M., Bevenssee, E., and Lillehoj, E.P. Resistance to Intestinal Coccidiosis Following DNA Immunization with the Cloned 3-1E *Eimeria* Gene Plus IL-2, IL-15, and IFN- $\gamma$ . Avian Dis. 49:112-117. 2005.



## **PNEUMOVÍRUS - IMPACTO NA PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

**Taylor Barbosa**

*DVM, MS, PhD, ACPV*

*Zoetis Global Poultry*

*1040, Swabia Ct, Durham, NC, USA. 27703*

*taylor.barbosa@zoetis.com*

Metapneumovírus aviário (do inglês Avian Metapneumovírus - aMPV) causa infecções agudas do trato respiratório superior de perus e também está associada com síndrome da cabeça inchada em frangos de corte e matrizes, bem como perdas de produção de ovos em poedeiras (1, 2). Apesar de ser muito relacionado aos sinais clínicos acima, nenhuma das condições é específica ao aMPV e a infecção pode ser confundida com outros agentes (*Bordetella avium*, *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT), Bronquite infecciosa, *Mycoplasma* e outras doenças respiratórias).

Detectado pela primeira vez em perus na África do Sul no final dos anos 1970 (3, 4), o vírus se espalhou para todas as principais áreas produtoras de aves do mundo, exceto para a Austrália. O aMPV foi detectado não apenas em galinhas e perus, mas também em faisões e patos. Gansos, pombos e algumas espécies de patos parecem ser refratários a doença (5-7). Estudos epidemiológicos sugerem que o vírus pode circular em aves selvagens, mas esta teoria ainda precisa ser comprovada.

Na grande maioria dos casos a infecção, em granjas comerciais, com aMPV é complicada por infecções secundárias, que conduz a grandes perdas econômicas. Essas perdas são estimadas em 1% a 3% em lotes infectados somente por aMPV e podem chegar a 20% a 30% quando complicada por infecções secundárias, normalmente bacterianas (2).

## **Etiologia**

O aMPV é um membro da família *Paramyxoviridae*, e da subfamília *Pneumovirinae*, que consiste do gênero *Pneumovírus* (incluindo o Vírus respiratório sincicial e o Pneumovírus de ratos) e do gênero *Metapneumovírus*, do qual são representantes o Metapneumovírus aviário e o Metapneumovírus humano (8).

As cepas isoladas de aMPV são agrupados em subtipos (A, B, C ou D). A subclassificação é feita pelas diferenças apresentadas na glicoproteína G de cada isolado. Análises filogenéticas da proteína F sugerem que os subtipos europeus A, B e D são mais estreitamente relacionados entre si do que para o subtipo C, originalmente isolado nos EUA (9, 10).

## **Transmissão**

A propagação do aMPV parece depender da densidade populacional de aves, condições de higiene e biossegurança. Comercialmente, o aMPV pode se espalhar rapidamente, horizontalmente, por contato direto ou por contato com material contaminado (2, 11). O vírus é considerado como sendo altamente contagioso, mas estudos indicam que o contato próximo das aves é necessário para a rápida disseminação do vírus (12). Entretanto, devido à rápida disseminação, após o isolado original, diversos meios podem estar envolvidos na transmissão, incluindo água contaminada, movimentação de aves infectadas, de caminhões de ração, de equipamentos e pessoas (13).

O aMPV é rapidamente destruído, devido a sua conformação (envelopado), após sua secreção ao ambiente (1, 14). Como o aMPV afeta o trato respiratório superior, a transmissão mais provável é via aérea, especialmente por meio de aerossol (15). Não há nenhuma evidência publicada que o aMPV possa ser transmitido verticalmente, apesar dos altos níveis de replicação viral encontrados no trato reprodutivo de matrizes (16).

## Sinais Clínicos

Como o aMPV induz uma infecção aguda, altamente contagiosa do trato respiratório superior de perus e galinhas, os sinais clássicos de corrimento nasal, tosse ou espirros discretos, tumefações perioculares são comumente observados (17, 18). Dependendo das infecções secundárias pode haver aumento significativo e repentino da mortalidade (12, 19). A doença afeta todas as faixas etárias, embora as aves mais jovens pareçam ser mais suscetíveis. Normalmente, em perus o trato respiratório superior é predominantemente afetado, enquanto em galinhas poedeiras apenas uma infecção respiratória leve, com possível queda na produção de ovos e qualidade dos ovos (12, 16, 20).

O período de incubação é de 3 a 7 dias e morbidade em aves de todas as idades podem chegar a 100%. A mortalidade pode ser 1-30%, dependendo da idade, da condição imunológica do lote e a presença ou não de infecções secundárias (12, 13). Aves sem infecções secundárias normalmente se recuperam dentro de 7-10 dias. No entanto, em aves com infecções secundárias e sob condições sub-ótimas de ambiente, a doença pode ser prolongada e agravada por aerossaculite, pericardite, pneumonia e perihepatite (13).

Muitas vezes, a infecção em galinhas não é claramente definida e pode não estar associada com sinais clínicos. A infecção em frangos geralmente está associada com a síndrome da cabeça inchada, condição caracterizada por inchaço dos seios peri e infra-orbital, olhos espumantes, secreção nasal, torcicolo, e opistótonos devido à infecção no ouvido (13, 21, 22). Normalmente, menos de 5% do lote apresenta “cabeça inchada”, embora os sinais respiratórios possam ser generalizados. A mortalidade, caso sem complicações secundárias, raramente é superior a 2%. Em matrizes e poedeiras comerciais, a produção de ovos e qualidade são frequentemente afetados, assim como em outras infecções respiratórias (13, 23).

## Diagnóstico

O ponto mais importante para a detecção do vírus no tracto respiratório superior de aves infectadas é o momento da amostragem, que deve ser feito nas fases iniciais da doença. Em frangos de corte, as amostras devem ser tomadas antes do 6º dia após a infecção (13, 14). Uma vez que os sinais clínicos são claros, o isolamento do aMPV normalmente não é exitoso. As amostras mais adequadas para detecção do aMPV são suabes da traquéia ou da coana. Cultivo em anéis de traquéia é o método mais sensível para o isolamento primário do aMPV. Ciliostase, que não é patognomônica, pode ser detectada dentro de 5-7 dias após a inoculação ou após passagens consecutivas (24, 25). O vírus também pode ser isolado em ovos embrionados (26). Para ambos os métodos o vírus pode ser identificado por microscopia de eletrônica, teste de neutralização viral, ou através de técnicas moleculares (27-33). Entretanto, o isolamento viral normalmente não é exitoso, devido à coleta após o aparecimento dos sinais clínicos.

Diversos protocolos para RT-PCR (Transcriptase Reversa seguida por Reação em cadeia da Polimerase) foram publicados e são amplamente utilizados para detectar o vírus em material clínico, especialmente suabes respiratórias. Com os avanços da biologia molecular o uso da RT-PCR seguida de seqüenciamento é cada vez mais comum e utilizado para a identificação da cepa circulante no campo (32, 34-36).

Como discutido acima e devido às dificuldades de isolamento e identificação do aMPV, testes sorológicos foram desenvolvidos para confirmar a infecção de modo indireto. Diversos kits comerciais de ELISA estão disponíveis e são geralmente usados, mas outras técnicas, incluindo a neutralização viral e imunofluorescência também têm sido utilizadas (37-39). Para o diagnóstico sorológico, amostras agudas e convalescentes devem ser enviados para análise, possibilitando a comparação da evolução dos níveis de anticorpos. Outra estratégia é coletar amostras sempre na mesma idade para avaliar a situação da doença de forma rotineira na região/empresa. Embora os kits de ELISA que utilizam cepas do subgrupo A ou subgrupo B, detectam anticorpos contra ambos os subgrupos, devido a reações cruzadas, o que também

pode ser visto nas vacinas. Já para o subgrupo C é necessário antígeno homólogo (39).

## **Prevenção e tratamento**

Como na maioria das infecções respiratórias, o bom manejo pode reduzir significativamente a gravidade da infecção, especialmente em perus, ventilação e densidade otimizadas, controle correto das temperaturas, boa qualidade da cama, e biosseguridade adequadas têm influência positiva sobre o controle da infecção. Todas essas práticas de alguma forma podem diminuir as infecções secundárias, pelo controle do desafio bacteriano. Portanto, o controle de infecções por *E. coli*, *Pasteurella*, *Micoplasmas*, e outros agentes respiratórios, seja através de vacinação ou uso de antibióticos podem diminuir os prejuízos econômicos da infecção (13).

Atualmente, vacinas vivas e inativadas estão disponíveis para a imunização de frangos e perus e são amplamente utilizadas em países onde a doença é endêmica (4, 40, 41). Os anticorpos maternos não oferecem proteção contra infecção aMPV, independente do nível de transferência (42). Deste modo, um programa de vacinação deve planejar para a primeira imunização, logo que possível após a eclosão, o que é crucial para alcançar um estado homogêneo de imunização do lote.

As vacinas vivas estimulam tanto resposta imune local e sistêmica e proteção cruzada entre os subtipos podem ocorrer, dependendo da cepa vacinal (43, 44). As vacinas inativadas podem ser utilizadas para imunização de reforço em poedeiras e reprodutoras, mas sempre após o “priming” com vacinas vivas. Outros protocolos de controle usam somente vacinas vivas, fazendo um programa de revacinação via água ou spray durante a recria das aves de vida longa.

A vacinação *in ovo*, que é mundialmente cada vez mais empregada, pode também ser utilizada para a vacinação contra o aMPV (45-47). Esta técnica, assim como para outras doenças, pode ser uma estratégia interessante para a indução eficaz e precoce de uma resposta imune. A capacidade de algumas vacinas contra o

amPV de serem combinadas com outras vacinas respiratórias é mais um benefício no controle das diferentes síndromes respiratórias. Vacinas suficientemente atenuadas para serem utilizadas via spray no incubatório ou via *in ovo* e que não interfiram com outros vírus respiratórios normalmente demonstram melhor benefício econômico para criações de frango de corte.

## Referências

1. Collins, M.S., and R.E. Gough. Characterization of a virus associated with turkey rhinotracheitis. The Journal of general virology 69 ( Pt 4):909-916. 1988.
2. Alexander, D.J., R.E. Gough, P.J. Wyeth, S.A. Lister, and N.J. Chettle. Viruses associated with turkey rhinotracheitis in Great Britain. The Veterinary record 118:217-218. 1986.
3. Buys, S.B., J.H. du Preez, and H.J. Els. Swollen head syndrome in chickens: a preliminary report on the isolation of a possible aetiological agent. Journal of the South African Veterinary Association 60:221-222. 1989.
4. Buys, S.B., J.H. du Preez, and H.J. Els. The isolation and attenuation of a virus causing rhinotracheitis in turkeys in South Africa. The Onderstepoort journal of veterinary research 56:87-98. 1989.
5. Bennett, R.S., B. McComb, H.J. Shin, M.K. Njenga, K.V. Nagaraja, and D.A. Halvorson. Detection of avian pneumovirus in wild Canada (*Branta canadensis*) and blue-winged teal (*Anas discors*) geese. Avian diseases 46:1025-1029. 2002.
6. Gough, R.E., M.S. Collins, W.J. Cox, and N.J. Chettle. Experimental infection of turkeys, chickens, ducks, geese, guinea fowl, pheasants and pigeons with turkey rhinotracheitis virus. The Veterinary record 123:58-59. 1988.
7. Shin, H.J., M.K. Njenga, D.A. Halvorson, D.P. Shaw, and K.V. Nagaraja. Susceptibility of ducks to avian pneumovirus of turkey origin. American journal of veterinary research 62:991-994. 2001.
8. Lwamba, H.C., R. Alvarez, M.G. Wise, Q. Yu, D. Halvorson, M.K. Njenga, and B.S. Seal. Comparison of the full-length genome sequence of avian metapneumovirus subtype C with other paramyxoviruses. Virus research 107:83-92. 2005.
9. Toquin, D., M.H. Bayon-Auboyer, D.A. Senne, and N. Etteradossi. Lack of antigenic relationship between French and recent North American non-A/non-B turkey rhinotracheitis viruses. Avian diseases 44:977-982. 2000.

10. Toquin, D., O. Guionie, V. Jestin, F. Zwingelstein, C. Allee, and N. Etteradossi. European and American subgroup C isolates of avian metapneumovirus belong to different genetic lineages. *Virus genes* 32:97-103. 2006.
11. McDougall, J.S., and J.K. Cook. Turkey rhinotracheitis: preliminary investigations. *The Veterinary record* 118:206-207. 1986.
12. Cook, J.K., M.M. Ellis, and M.B. Huggins. The pathogenesis of turkey rhinotracheitis virus in turkey poults inoculated with the virus alone or together with two strains of bacteria. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 20:155-166. 1991.
13. Jones, R.C. Avian pneumovirus infection: Questions still unanswered. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 25:639-648. 1996.
14. Collins, M.S., R.E. Gough, S.A. Lister, N. Chettle, and R. Eddy. Further characterisation of a virus associated with turkey rhinotracheitis. *The Veterinary record* 119:606. 1986.
15. Catelli, E., J.K. Cook, J. Chesher, S.J. Orbell, M.A. Woods, W. Baxendale, and M.B. Huggins. The use of virus isolation, histopathology and immunoperoxidase techniques to study the dissemination of a chicken isolate of avian pneumovirus in chickens. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 27:632-640. 1998.
16. Jones, R.C., R.A. Williams, C. Baxter-Jones, C.E. Savage, and G.P. Wilding. Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis virus: distribution of virus in the tissues and serological response. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 17:841-850. 1988.
17. Alkhalaf, A.N., L.A. Ward, R.N. Dearth, and Y.M. Saif. Pathogenicity, transmissibility, and tissue distribution of avian pneumovirus in turkey poults. *Avian diseases* 46:650-659. 2002.
18. Cook, J.K., J. Chesher, F. Orthel, M.A. Woods, S.J. Orbell, W. Baxendale, and M.B. Huggins. Avian pneumovirus infection of laying hens: experimental studies. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 29:545-556. 2000.
19. Jirjis, F.F., S.L. Noll, D.A. Halvorson, K.V. Nagaraja, F. Martin, and D.P. Shaw. Effects of bacterial coinfection on the pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys. *Avian diseases* 48:34-49. 2004.
20. Jones, R.C., C. Baxter-Jones, C.E. Savage, D.F. Kelly, and G.P. Wilding. Experimental infection of chickens with a ciliostatic agent isolated from turkeys with rhinotracheitis. *The Veterinary record* 120:301-302. 1987.
21. Cook, J.K. Avian pneumovirus infections of turkeys and chickens. *Veterinary journal* 160:118-125. 2000.
22. Jones, R.C., C. Baxter-Jones, G.P. Wilding, and D.F. Kelly. Demonstration of a candidate virus for turkey rhinotracheitis in experimentally inoculated turkeys. *The Veterinary record* 119:599-600. 1986.

23. Shin, H.J., K.V. Nagaraja, B. McComb, D.A. Halvorson, F.F. Jirjis, D.P. Shaw, B.S. Seal, and M.K. Njenga. Isolation of avian pneumovirus from mallard ducks that is genetically similar to viruses isolated from neighboring commercial turkeys. *Virus research* 83:207-212. 2002.
24. Goyal, S.M., S.J. Chiang, A.M. Dar, K.V. Nagaraja, D.P. Shaw, D.A. Halvorson, and V. Kapur. Isolation of avian pneumovirus from an outbreak of respiratory illness in Minnesota turkeys. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 12:166-168. 2000.
25. Coswig, L.T., M.B. dos Santos, H.M. Hafez, H.L. Ferreira, and C.W. Arns. Propagation of avian metapneumovirus subtypes A and B using chicken embryo related and other cell systems. *Journal of virological methods* 167:1-4. 2010.
26. Panigrahy, B., D.A. Senne, J.C. Pedersen, T. Gidlewski, and R.K. Edson. Experimental and serologic observations on avian pneumovirus (APV/turkey/Colorado/97) infection in turkeys. *Avian diseases* 44:17-22. 2000.
27. Usami, Y., M. Mase, O. Yamaguchi, and K. Imai. Detection of antibodies to avian pneumovirus by a micro-indirect immunofluorescent antibody test. *Avian diseases* 43:384-390. 1999.
28. Cook, J.K., B.V. Jones, M.M. Ellis, L. Jing, and D. Cavanagh. Antigenic differentiation of strains of turkey rhinotracheitis virus using monoclonal antibodies. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 22:257-273. 1993.
29. Collins, M.S., R.E. Gough, and D.J. Alexander. Antigenic differentiation of avian pneumovirus isolates using polyclonal antisera and mouse monoclonal antibodies. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 22:469-479. 1993.
30. Brown, P.A., M. Bonci, E. Ricchizzi, R.C. Jones, and C.J. Naylor. Identification of two regions within the subtype A avian metapneumovirus fusion protein (amino acids 211-310 and 336-479) recognized by neutralizing antibodies. *Virus research* 146:13-18. 2009.
31. Jing, L., J.K. Cook, T. David, K. Brown, K. Shaw, and D. Cavanagh. Detection of turkey rhinotracheitis virus in turkeys using the polymerase chain reaction. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 22:771-783. 1993.
32. Dar, A.M., K. Tune, S. Munir, B. Panigrahy, S.M. Goyal, and V. Kapur. PCR-based detection of an emerging avian pneumovirus in US turkey flocks. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 13:201-205. 2001.
33. Ongor, H., M. Karahan, R. Kalin, H. Bulut, and B. Cetinkaya. Detection of avian metapneumovirus subtypes in turkeys using RT-PCR. *The Veterinary record* 166:363-366. 2010.



34. Pedersen, J.C., D.A. Senne, B. Panigrahy, and D.L. Reynolds. Detection of avian pneumovirus in tissues and swab specimens from infected turkeys. *Avian diseases* 45:581-592. 2001.
35. D'Arce, R.C., L.T. Coswig, R.S. Almeida, I.M. Trevisol, M.C. Monteiro, L.I. Rossini, J. Di Fabio, H.M. Hafez, and C.W. Arns. Subtyping of new Brazilian avian metapneumovirus isolates from chickens and turkeys by reverse transcriptase-nested-polymerase chain reaction. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 34:133-136. 2005.
36. Lee, E., M.S. Song, J.Y. Shin, Y.M. Lee, C.J. Kim, Y.S. Lee, H. Kim, and Y.K. Choi. Genetic characterization of avian metapneumovirus subtype C isolated from pheasants in a live bird market. *Virus research* 128:18-25. 2007.
37. Baxter-Jones, C., M. Grant, R.C. Jones, and G.P. Wilding. A comparison of three methods for detecting antibodies to turkey rhinotracheitis virus. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 18:91-98. 1989.
38. O'Loan, C.J., G. Allan, C. Baxter-Jones, and M.S. McNulty. An improved ELISA and serum neutralisation test for the detection of turkey rhinotracheitis virus antibodies. *Journal of virological methods* 25:271-282. 1989.
39. Turpin, E.A., D.C. Lauer, and D.E. Swayne. Development and evaluation of a blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of avian metapneumovirus type C-specific antibodies in multiple domestic avian species. *Journal of clinical microbiology* 41:3579-3583. 2003.
40. Cha, R.M., M. Khatri, and J.M. Sharma. Protection against avian metapneumovirus subtype C in turkeys immunized via the respiratory tract with inactivated virus. *Vaccine* 29:459-465. 2011.
41. Cook, J.K., F. Orthel, S. Orbell, M.A. Woods, and M.B. Huggins. An experimental turkey rhinotracheitis (TRT) infection in breeding turkeys and the prevention of its clinical effects using live-attenuated and inactivated TRT vaccines. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 25:231-243. 1996.
42. Naylor, C.J., K.J. Worthington, and R.C. Jones. Failure of maternal antibodies to protect young turkey poults against challenge with turkey rhinotracheitis virus. *Avian diseases* 41:968-971. 1997.
43. Van de Zande, S., H. Nauwynck, C. Naylor, and M. Pensaert. Duration of cross-protection between subtypes A and B avian pneumovirus in turkeys. *The Veterinary record* 147:132-134. 2000.
44. Cook, J.K., M.B. Huggins, M.A. Woods, S.J. Orbell, and A.P. Mockett. Protection provided by a commercially available vaccine against different strains of turkey rhinotracheitis virus. *The Veterinary record* 136:392-393. 1995.

45. Hess, M., M.B. Huggins, and U. Heincz. Hatchability, serology and virus excretion following in ovo vaccination of chickens with an avian metapneumovirus vaccine. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 33:576-580. 2004.
46. Tarpey, I., and M.B. Huggins. Onset of immunity following in ovo delivery of avian metapneumovirus vaccines. *Veterinary microbiology* 124:134-139. 2007.
47. Worthington, K.J., B.A. Sargent, F.G. Davelaar, and R.C. Jones. Immunity to avian pneumovirus infection in turkeys following in ovo vaccination with an attenuated vaccine. *Vaccine* 21:1355-1362. 2003.

## **IMMUNOPATHOLOGY IN INFECTIOUS BRONCHITIS AND ITS ROLE IN THE VACCINATION RESPONSE**

**Dr. Mark W. Jackwood**

*Poultry Diagnostic and Research Center  
College of Veterinary Medicine  
University of Georgia  
Athens, GA 30602*

Infectious bronchitis virus (IBV) is an avian coronavirus that causes a highly infectious upper-respiratory disease in chickens. Some strains of the virus affect the kidneys causing nephritis, which when severe can result in significant mortality in the flock. The reproductive tract can also be affected causing decreased egg production, as well as egg and eggshell quality in hens. Infectious bronchitis virus is found worldwide and similar coronaviruses have been isolated from pheasants, grayleg geese, pigeons and wild birds (Cavanagh *et al.*, 2002; Hughes *et al.*, 2009; Jonassen *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2005; Mihindukulasuriya *et al.*, 2008; Muradrasoli *et al.*, 2009; Woo *et al.*, 2009).

Control of the disease is extremely important because IBV replicates in the epithelium of the upper-respiratory tract, which predisposes infected birds to potentially lethal secondary pathogens like *Escherichia coli* (Cavanagh and Gelb Jr, 2008). Many different types of the virus can be found because rapid replication and high rates of mutation results in extensive genetic diversity. Strains of IBV reported in South America are shown in Table 1. Strains reported in Brazil include Arkansas, Mass, 793B (4/91) and three unique variant types designated BR1, BR2 and BR3.

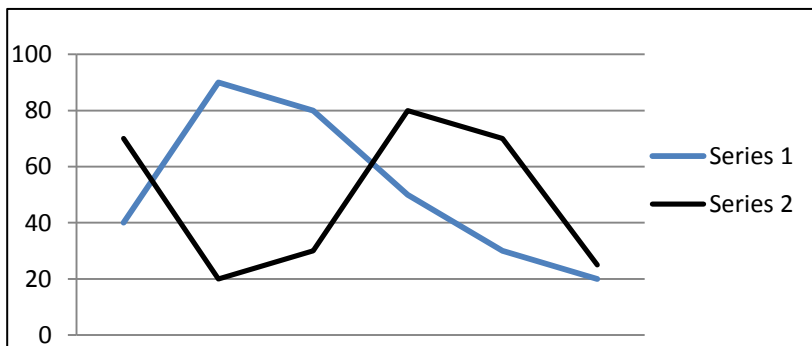
**Table 1.** IBV types reported in South America

IBV strain	Type	Accession number
<b>Brazil/Ark type</b>	Arkansas	NA
<b>Brazil/BR1/USP-28/08</b>	BR1	FJ791269
<b>Brazil/BR2/USP-21/08</b>	BR2	FJ791262
<b>Brazil/BR3/USP-16/07</b>	BR3	FJ791257
<b>Brazil/793B/USP-31/08</b>	793B	FJ791272
<b>Brazil/USP-01/05</b>	?	DQ355995
<b>Brazil/Mass/USP-15/08</b>	Mass	FJ791256
<b>Chile/LDL/Q1-12103b/09</b>	LDL	HM446012
<b>Colombia/LDL/Q1-92079/12</b>	LDL	NA

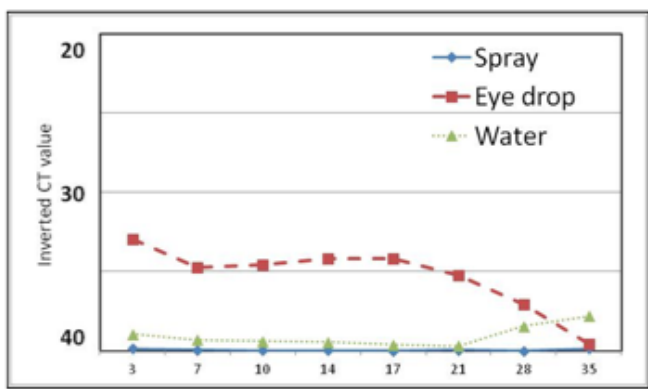
Generally, different IBV types do not cross-protect against each other. Attenuated live vaccines and killed vaccines are used in an attempt to prevent the disease, but because of the different virus types, it is important to properly vaccinate chickens with the type of IBV causing the disease (Cavanagh and Gelb Jr, 2008). There are a limited number of different IBV vaccines currently used around the world, but there are countless variant viruses for which no vaccines exist, leaving poultry farmers with little or no options for control of the disease.

Previous studies have shown that vaccinating with two different types of IBV vaccine can provide broad protection against several different IBV types (Cook, 1999). But, apparently not all vaccine combinations provide the same breath of protection, and it is not clear which vaccine combinations provide the best protection against specific variant viruses. Identifying these so called protectotype vaccine combinations can be important for the future control of IBV.

Protection against infection by IBV is mediated by stimulating a local immune response in the upper-respiratory tract of the chicken. Attenuated live vaccines stimulate a mucosal IgA response, which binds to neutralizing epitopes on field viruses and blocks infection. Attenuated live vaccines also induce a mucosal cellular immune response, which has been shown to play an important role in recovery from the disease. Interestingly, maternal antibodies do not appear to interfere with vaccination of 1-day old chicks, likely because they are systemic antibodies circulating in the blood.



**Figure 1.** Arkansas field boost vaccination in broilers. Percent positive birds through the grow out



**Figure 2.** Level of Ark vaccine virus in the trachea following spray, eye drop or water administration at various times (X axis in days) post-vaccination

Previously, we examined IBV field boost vaccination in commercial broilers and found that the Arkansas vaccine was persisting in the flock and the number of birds positive for vaccine virus (Figure 1) followed a parabolic shaped curve that peaked at 14 days post-vaccination or resembled a sinusoidal type wave with a frequency of about 2 weeks (Jackwood *et al.* 2009). It is not clear

why different patterns of IBV vaccine coverage were observed following field boost, but we believe that hatchery IBV vaccination plays a role. In another study, we found inadequate protection against challenge with Arkansas type viruses whereas other IBV vaccine types provided good protection. We also found that there was no interference occurring between Ark vaccine and other IBV vaccine types and in fact including other IBV vaccine types (GA98) with Ark vaccine enhanced the immune response to Ark. It was interesting that hatchery spray cabinet administration of Ark vaccine was not efficacious whereas eye-drop administration of the same vaccine did protect the birds against challenge. Thus it appears that an immunizing dose of Ark vaccine is not being delivered to chicks (Figure 2) using a hatchery spray cabinet. This work highlights the unique properties of Ark type IBV vaccine and reinforces the importance of proper vaccine administration.

Monitoring the immune response to IBV vaccination by ELISA is easy but interpreting the results can be challenging. Typically sera collected from broilers at 35 days of age following vaccination at 1 and 14 days of age shows little or no antibodies against IBV. If the birds receive a challenge dose of pathogenic IBV and are protected, a rise in ELISA antibody titers can be expected. However, challenge with some variant strains of IBV may not cause a significant rise in serum antibody titer. It is best to compare paired serum samples when using ELISA to monitor birds for an immune response to IBV but base line data (typical serum antibody response to vaccination in the absence of challenge) can also be helpful.

## References

- Callison, S.A., Hilt, D.A., Boynton, T.O., Sample, B.F., Robison, R., Swayne, D.E., Jackwood, M.W., 2006. Development and evaluation of a real-time Taqman RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus from infected chickens. *J. Virol. Methods* 138(1-2), 60-65.
- Cavanagh, D., Gelb Jr, J., 2008. Infectious Bronchitis. In: Saif, Y.M. (Ed.), *Diseases of Poultry*, 12th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, Ames, IA, pp. 117-135.

Cavanagh, D., Mawditt, K., Welchman Dde, B., Britton, P., Gough, R.E., 2002. Coronaviruses from pheasants (*Phasianus colchicus*) are genetically closely related to coronaviruses of domestic fowl (infectious bronchitis virus) and turkeys. *Avian Pathol.* 31(1), 81-93.

Cook, J.K.A., Orbell, S. J., Woods, M. A., Huggins, M. B., 1999. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. *Avian Pathol.* 28, 477-485.

Hughes, L.A., Savage, C., Naylor, C., Bennett, M., Chantrey, J., Jones, R., 2009. Genetically diverse coronaviruses in wild bird populations of northern England. *Emerg. Infect. Dis.* 15(7), 1091-1094.

Jackwood, M. W., D. A. Hilt, A. W. McCall, C. N. Polizzi, E. T. McKinley, and S. M. Williams. Infectious Bronchitis Virus Field Vaccination Coverage, Vaccine Levels, and Persistence of Arkansas Type Viruses in Commercial Broilers. *Avian Dis.* 53:175-183. 2009.

Jonassen, C.M., Kofstad, T., Larsen, I.L., Lovland, A., Handeland, K., Follestad, A., Lillehaug, A., 2005. Molecular identification and characterization of novel coronaviruses infecting graylag geese (*Anser anser*), feral pigeons (*Columbia livia*) and mallards (*Anas platyrhynchos*). *J. Gen. Virol.* 86(Pt 6), 1597-1607.

Liu, S., Chen, J., Chen, J., Kong, X., Shao, Y., Han, Z., Feng, L., Cai, X., Gu, S., Liu, M., 2005. Isolation of avian infectious bronchitis coronavirus from domestic peafowl (*Pavo cristatus*) and teal (*Anas*). *J. Gen. Virol.* 86(Pt 3), 719-725.

Mihindukulasuriya, K.A., Wu, G., St Leger, J., Nordhausen, R.W., Wang, D., 2008. Identification of a novel coronavirus from a beluga whale by using a panviral microarray. *J. Virol.* 82(10), 5084-5088.

Muradrasoli, S., Mohamed, N., Hornyak, A., Fohlman, J., Olsen, B., Belak, S., Blomberg, J., 2009. Broadly targeted multiprobe QPCR for detection of coronaviruses: Coronavirus is common among mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *J. Virol. Methods* 159(2), 277-287.

Woo, P.C., Lau, S.K., Lam, C.S., Lai, K.K., Huang, Y., Lee, P., Luk, G.S., Dyrting, K.C., Chan, K.H., Yuen, K.Y., 2009. Comparative analysis of complete genome sequences of three avian coronaviruses reveals a novel group 3c coronavirus. *J. Virol.* 83(2), 908-917.

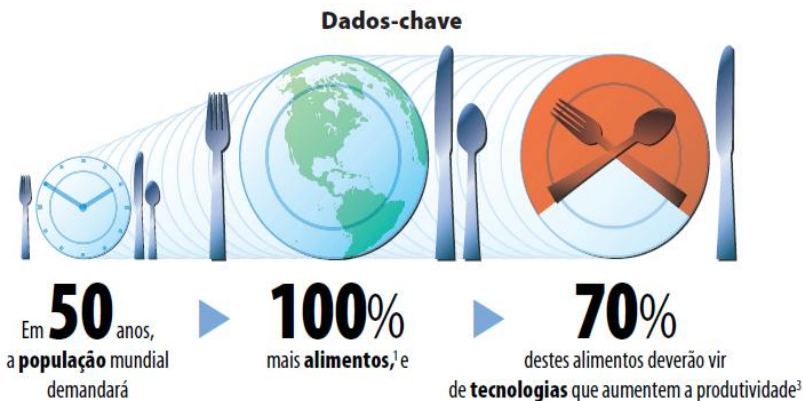
## **ANÁLISE DE RISCO DE RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS, VIOLAÇÕES E BARREIRAS COMERCIAIS**

**Alexandre T. Zocche**

*Elanco Saúde animal*  
*zoccheal@elanco.com*

Hoje há aproximadamente um bilhão de pessoas no mundo que passam fome. Contudo, em apenas 50 anos estima-se que nossa população global em crescimento requererá 100% mais de alimentos do que se produz hoje. Infelizmente, não teremos 100% mais área agricultável de alta qualidade disponível para produzirmos o dobro de grãos ou duas vezes mais animais para produção de alimentos. A FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) relata que o aumento de área em produção agropecuária permitirá a produção de apenas 20% da quantidade de alimentos adiciona, que será demandada em 2050, e que 10% virá do aumento de intensidade na atividade agrícola. Coerentemente, a FAO conclui que 70% da demanda adicional por alimentos poderão ser produzidas apenas com as tecnologias agropecuárias novas ou já existentes. As consequências da não utilização dessas tecnologias e inovações baseadas em ciência serão desastrosas. Os produtores de alimentos em países industrializados e em desenvolvimento precisam igualmente de tecnologia para garantir o fornecimento de grãos e proteínas de origem animal seguros, nutritivos e a custos razoáveis, de maneira sustentável, a fim de satisfazer o veloz aumento de demanda. Por esse motivo, e vários outros, todos compartilharam a responsabilidade de assegurar que as novas tecnologias agropecuárias – assim como aquelas que foram comprovadas como seguras e efetivas durante décadas – continuem disponíveis. (SIMMONS J, 2010).





Fonte: "Number of hungry people rises to 963 million." United Nations Food and Agriculture Organization, Rome. Accessed 12/19/08. <<http://www.fao.org/news/story/en/item/8836/icode/>>.

**Gráfico 1.** Sequencia da dinâmica mundial para o consumo de alimentos com base em tecnologia

## O crescimento populacional será maior do que nossa habilidade de atender à demanda de alimentos?

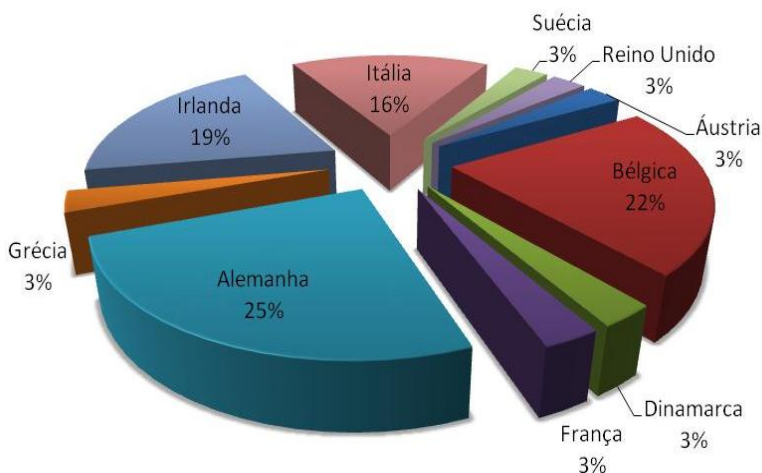
Alguns argumentam que isto já ocorreu. Em dezembro de 2008, aproximadamente 963 milhões de pessoas em todo o mundo não conseguiam alimentar-se de maneira adequada. Aproximadamente 42% das pessoas que sofrem de fome crônica vivem em duas das regiões mais populosas das nações em desenvolvimento: Índia e China. Devido à má-nutrição, uma em cada quatro crianças nas nações de "Segundo e Terceiro Mundo" (M2 e M3) estão abaixo do peso para sua idade. Esta é uma situação inaceitável nos dias atuais e exigirá uma nova abordagem na produção de alimentos para evitar um cenário ainda pior nas próximas décadas. Isto ocorre porque espera-se que a demanda global por alimentos aumente em 100% até 2050. Consequentemente, a FAO projeta que a produção global de carnes e proteínas derivadas do leite vai praticamente dobrar até 2050. Este aumento na demanda global será impulsionado por um constante incremento no crescimento populacional atual de 6,7

bilhões de pessoas para mais de nove bilhões no meio do século 21. Este acréscimo populacional será caracterizado pelo aumento na riqueza, particularmente nas nações do chamado “Segundo Mundo” (M2), o que criará a maior ampliação no consumo global de carnes e produtos lácteos da história. Muito deste aumento ocorre concomitantemente a uma melhoria nos padrões de vida das nações em desenvolvimento, onde mais pessoas podem custear a troca de grãos de baixo custo em sua dieta diária por fontes de proteína de maior valor. A China é um grande exemplo desta tendência. Comparada às outras nações do grupo M2 como a Índia, a China teve mais progressos na redução da fome em sua população em expansão. Em 1985, o consumo de carnes na China era de aproximadamente 20 kg por habitante por ano. Em 2000, esta quantidade havia aumentado para 41 kg per capita anualmente, valor que, estima-se, mais do que duplicará novamente até 2030.

Alguns limitantes para este grande aumento na produção são a Sanidade dos lotes, lembrando o que ocorreu com a Influenza aviária, segurança alimentar na busca de alimentos saudáveis para o consumidor e livre de patógenos, a resistência aos antibióticos e as análises de resíduos dos mesmos em carcaças de frangos de corte. Pensando neste ultimo tema, gostaria de aprofundar um pouco mais trazendo uma atualização do que ocorreu nos principais meses de 2012.

### **Cenário mundial em relação a resíduos, uma breve atualização dos fatos e como o Brasil se encontra neste cenário**

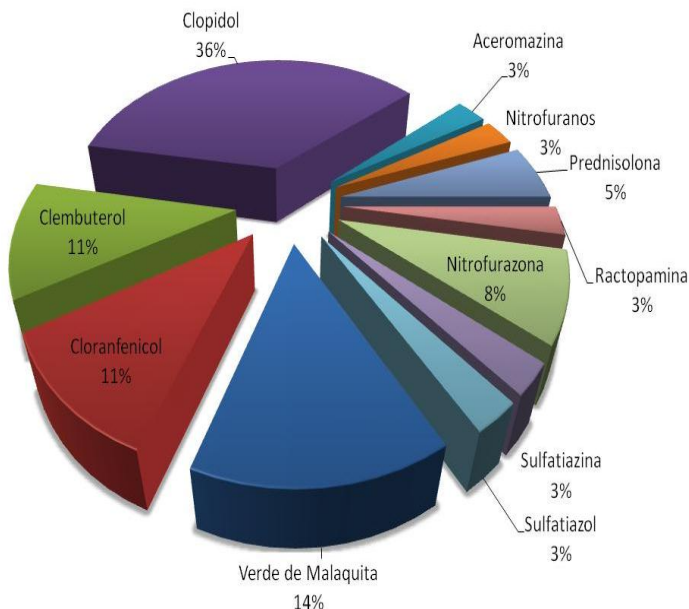
Buscando uma breve atualização que ocorreu de Janeiro a Outubro de 2012, percebemos que os principais países que detectaram maiores problemas de resíduos veterinários em suas análises foram: Alemanha, Bélgica, Irlanda e Itália, conforme mostra o gráfico abaixo.



Fonte: Assurance plus 2012.

**Gráfico 2.** Países que mais relataram alertas rápido no período de análise - Janeiro a Outubro de 2012 para resíduos veterinários

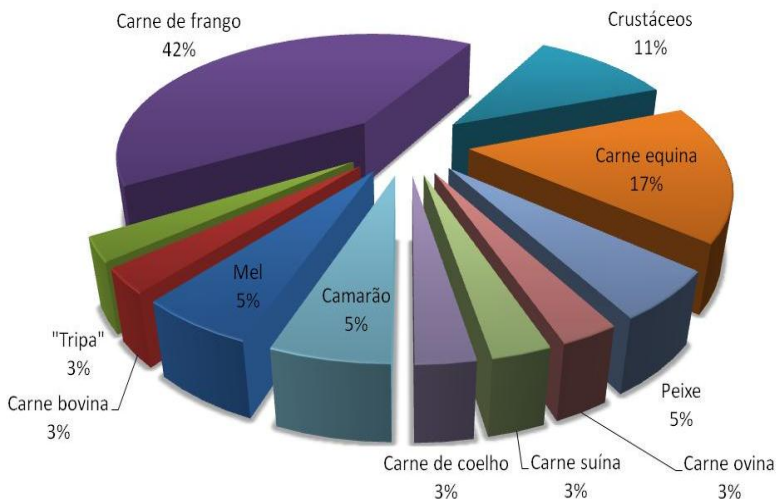
Dentre as drogas mais encontradas encontra-se: Clopidol, principalmente encontradas na carne brasileira. Cloranfenicol que em aves está proibida, porém não foi um achado de aves, verde de Malaquita e Clembuterol.



Fonte: Assurance plus, 2012.

**Gráfico 3.** Relato dos principais princípios ativos encontrados em monitoria de análise de resíduo na Europa de Janeiro a Outubro de 2012

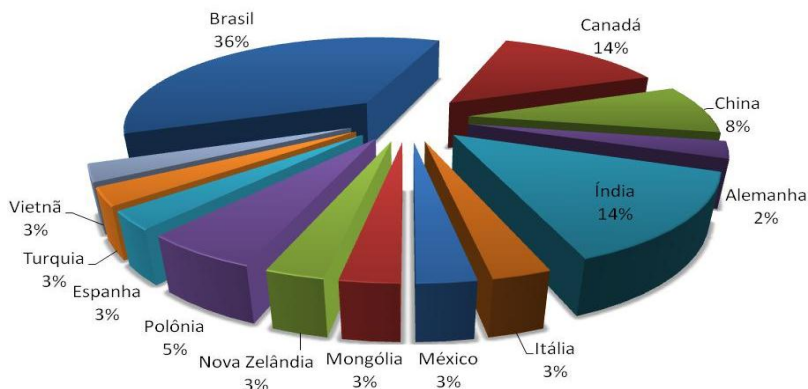
As espécies animais mais encontrados foram: carne de frangos 42%, carne equina 17% e crustáceos 11%.



Fonte: Assurance plus 2012.

**Gráfico 4.** Relato de alertas rápido das principais espécies encontrados em monitoria para resíduos veterinários no período de Janeiro a Outubro de 2012 na Europa

Dos países que exportam o Brasil teve o maior índice de achados de resíduos em carnes no ano de 2012, seguidos por Canadá, Índia e China.



Fonte: Assurance plus, 2012.

**Gráfico 5.** Relato dos países que tiveram maior número de violações por resíduos no período de Janeiro a Outubro de 2012 na Europa

Mesmo o Brasil encontrando-se em liderança nos achados de resíduos veterinários a nossa avicultura trabalha com excelência e liderança e este volume de achados refere-se simplesmente pelo volume exportado para estes países.

Outro ponto importante para assegurar a confiança dos países importadores são regras claras e confiáveis sobre análise de risco. O Brasil tem buscado se adaptar constantemente a essa legislação e as empresas buscam através de implementações de controles de qualidade a excelência neste processo. Para entendermos um pouco mais, vamos a terminologia.

## **Análise de risco e o uso de tecnologia na produção para os próximos anos**

Segundo o *Codex Alimentarius*, análise de risco é a garantia de que os alimentos não causem danos ao consumidor, quando preparados e ou consumidos de acordo com o uso a que se destinam.

O Codex fundamenta esta análise em três pilares:

- a) Gestão de riscos;
- b) Avaliação de riscos;
- c) Comunicação de riscos.

A gestão da análise de risco deve compor os seguintes pontos:

- ✓ Apreciação do risco;
- ✓ Avaliação das opções;
- ✓ Implementação;
- ✓ Monitoramento e revisão.

Durante a gestão da análise de risco, um ponto muito importante a ser monitorado é o uso de antimicrobianos e suas monitorias principalmente:

- ✓ Resíduos;
- ✓ Microbiológico;
- ✓ Contaminantes;

É sempre importante monitorar o que ocorrendo nos países importadores e mensalmente devemos buscar relatórios executivos como o que apresento abaixo, cujo objetivo é entender qual é a dinâmica e tendência que está sendo dirigida para as próximas negociações.

Resumo relatório executivo: - exemplo julho a agosto – 2012.

- ✓ Houve três rejeições por Ivermectina – gado brasileiro em 2012, em 2011 tivemos 25 rejeições por este ativo.
- ✓ Problemas com resíduos de Clopidol em carne de frango, com seis rejeições do Brasil e uma de Israel.

- ✓ Em aves (UE), 23 violações foram relatadas: para *Salmonella spp* (18 em frangos, três em perus e dois em ovos), três para *Campylobacter* e um para *L. monocytogenes* em galinhas.

## **Commission regulation (EU) Nº 610/2012 of 9 July 2012**

Mudanças: Lasalocida – bovinos;

Maduramicina – ovos – contaminação cruzada.

Nicarbazina e Diclazuril: licença 10 anos e estudo de contaminação cruzada –carry over – novos valores de contaminação – Limites Máximos / não MRL em espécies não alvo.

### **Gestão de análise de risco**

Tendo como base a gestão do processo é muito importante seguirmos esta regra básico do processo:

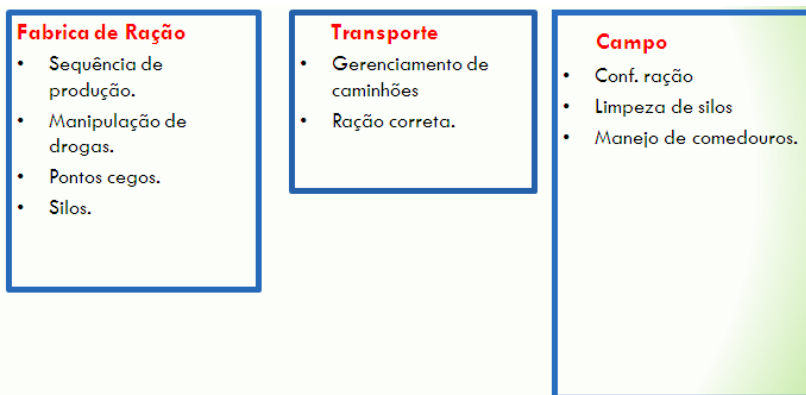


**Gráfico 6.** Sequencia do processo de gestão de risco para o uso de antimicrobianos veterinários e fábrica de ração e granjas



Tendo uma visão macro do negócio, é necessário abranger todos os principais pontos para que haja um total controle na análise de risco. Tal como é mostrado no esquema abaixo.

**Quadro 1.** Sequencia de processos que devem ser atentados para uma boa análise de risco para resíduos veterinários em Fabrica de ração, transporte e campo.



Fonte: Seminário UBABEF de sobre resíduos de drogas veterinárias e contaminantes 2012.

## Conclusões

O mundo vem passando por diversas mudanças em todos os pilares da agricultura moderna e principalmente econômica. Fato é que existem países emergentes que estão cada vez mais possuindo o poder da escolha por alimentos seguros e de fácil acesso. Porém existem alguns pontos que gostaria de mencionar que devem ser atentados para os próximos anos, tais como:

- ✓ Agricultura (Segurança Alimentar) está nas manchetes;
- ✓ As seis principais áreas de tomada de decisão dão suporte à tecnologia & escolha: 1. Ciência, 2. Economia, 3. Social, 4. Ambiental, 5. Consumidor, 6. Bem-estar animal.
- ✓ Já o fizemos antes .... últimos 50 anos
- ✓ 99% dos consumidores QUEREM: nutrição, acesso, sabor, & escolha!
- ✓ 500 indivíduos influenciam a cadeia global de alimentos.

- ✓ Mudança positiva de posição do varejo quanto à tecnologia nos últimos dois anos.
- ✓ Inovação é abundante e FDA está priorizando o debate e registro de inovações tecnológicas.

## **Referências bibliográficas**

Green, R. et al. January 2005. "Farming and the Fate of Wild Nature." *Science* 307.5709: 550-555; and Tilman, D. et al. August 2002. "Agricultural sustainability and intensive production practices." *Nature* 418.6898: 671-677.

"World Agriculture: toward 2015/2030." 2002. United Nations Food and Agriculture Organization, Rome. Accessed 12/8/08. <[ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/004/y3557e/y3557e.pdf](http://ftp.fao.org/docrep/fao/004/y3557e/y3557e.pdf)>.

"Number of hungry people rises to 963 million." United Nations Food and Agriculture Organization, Rome. Accessed 12/19/08. <<http://www.fao.org/news/story/en/item/8836/icode/>>.

"The State of Food Insecurity in the World 2008." 2008. United Nations Food and Agriculture Organization, Rome.

"Goal 1: Eradicate extreme poverty and hunger." United Nations Millennium Development Goals. Accessed 12/8/08. <[http://www.fao.org/faostat/foodsecurity/MDG/MDG-Goal1\\_en.pdf](http://www.fao.org/faostat/foodsecurity/MDG/MDG-Goal1_en.pdf)>.

Steinfeld, H. et al. 2006. "Livestock's Long Shadow: environmental issues and options." Executive Summary, page xx. United Nations Food and Agriculture Organization, Rome.

"World Population Prospects: The 2006 Revision." 2007. United Nations Population Division, New York.

"China's rapidly growing meat demand: a domestic or an international challenge?" December 2005. Centre for World Food Studies. SOW-VU Brief no. 3. Accessed 12/8/08. <<http://www.sow.vu.nl/pdf/Brief%20Feed%20for%20China.pdf>>.

Hines, A. July-August 2008. "Consumer Trends in Three Different 'Worlds.'" *The Futurist*.

"Climate change likely to increase risk of hunger." August 2007. United Nations Food and

Agriculture Organization Newsroom. Accessed 12/9/08. <<http://www.fao.org/newsroom/en/news/2007/1000646/index.html>>.

Viveros, A. and Stilwell, A. 2008. "Rising Food Prices Threaten Poverty Reduction." Accessed 12/8/08. <<http://web.worldbank.org>>.

Gunther, M. 2008. "To feed the world—without destroying it — big companies need to get smart about what they buy." Accessed 12/8/08. <[http://money.cnn.com/2008/05/21/news/companies/gunther\\_farming.fortune/index.htm](http://money.cnn.com/2008/05/21/news/companies/gunther_farming.fortune/index.htm)>.

## **THOUGHTS ABOUT BROILER HOUSE VENTILATION CONCEPTION AND MANAGEMENT IN SOUTH BRAZIL**

**Claude Toudic**

*Hubbard*

### **Introduction**

Conceiving a broiler house is a complex issue from an engineering point of view. A broiler house should be as big as possible to reduce all costs such as construction cost, labor and energy requirements. This broiler house should provide good comfort to day old featherless chicks as well as to fully feathered crowded broilers, and this whatever the season.

There is rarely breakthrough in engineering. The current models of Brazilian broiler houses are an evolution of dozen of previous less advanced models. The reasons for this are related to the culture of the people involved, the know-how of builders, the availability and cost of construction materials and the cost of labor and energy in the country. All these reasons may explain why current broiler houses are so different in similar climates around the world. The climate of South Brazil, South United States, South Europe and North Africa are quite close but their broiler houses are very different. Anyway, whatever the houses design, the lowest live weight cost can only be achieved if it meets the bird's requirements.

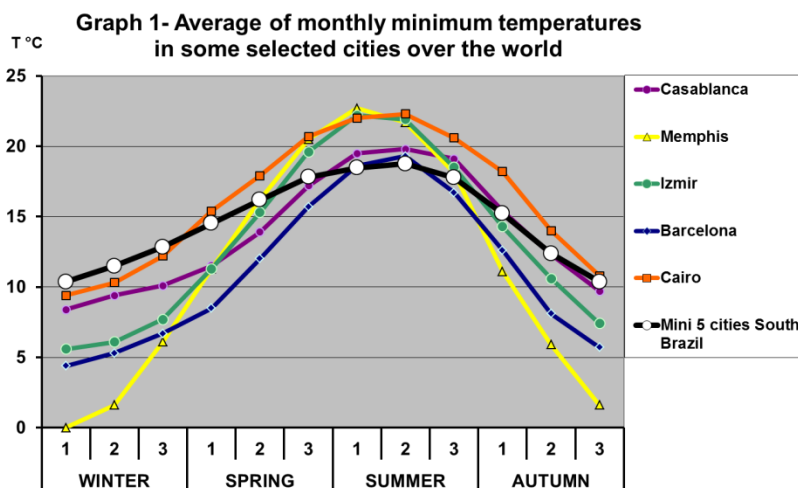
What are these requirements? How the Brazilian poultry industry is meeting them? What further steps could be developed? Finally, the end of the presentation will detail two examples of mismanagement in high end poultry houses. A broiler house can be compared to a car. The faster the car the better the driver has to be.

## Climatic conditions: the main external constraint

Meteo France is maintaining a worldwide database for climatic conditions. For each month, they are calculating, amongst others, the average of the 30 daily lowest and highest recorded still air temperature. This approach is much more relevant for poultry growing than looking at average temperatures. Below, 5 cities of South Brazil (Chapeco, Curitiba, Londrina, Porto Alegre and Sao Paulo) are compared to USA, Europe, Middle-East and African cities where poultry business is developed.

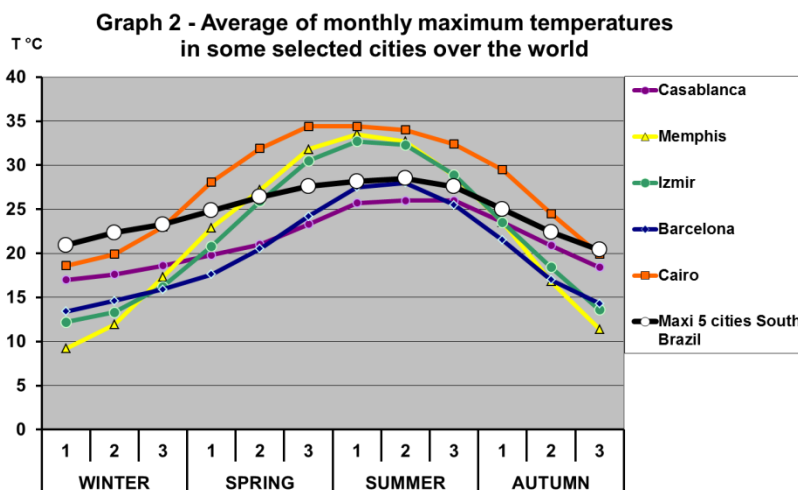
### Minimum temperatures

The Graph 1 shows that South Brazil average minimum temperatures are close to Cairo (Egypt) in autumn and winter and close to Barcelona (Spain) or Casablanca (Morocco) in spring and summer. Memphis (USA) is much colder in autumn and winter and warmer in summer.



## Maximum temperatures (Graph 2)

South Brazil maximum temperatures are close to Cairo and Casablanca in winter and autumn, close to Memphis in spring and close to Barcelona and Casablanca in summer. Cairo, Memphis and Izmir (Turkey) are more challenging in summer as maximum temperatures are 5 to 7°C higher than in South Brazil.



The absence of insulation in Brazilian broiler houses, unlike the other cities cited in comparison, comes probably not mainly from the climatic conditions. It's more due to the low cost of fuel (wood) and the availability of labor to feed the heaters whenever it's required.

The recent and slow development of pad cooling in South Brazil seems understandable as temperatures are never very high. Can pad cooling bring something in such conditions?

## **What is the seasonal effect on performances in South Brazil?**

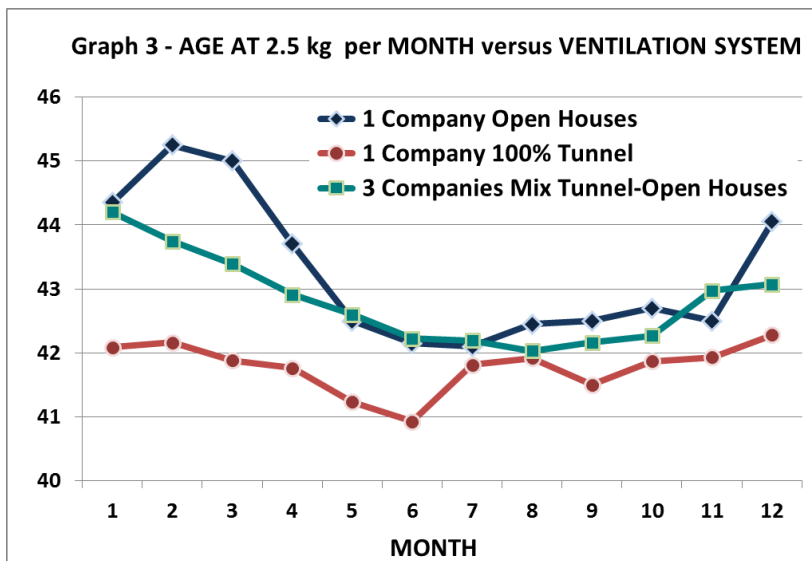
Checking that actual performances are confirming the theory about ventilation is difficult to achieve because many factors are contributing to broiler performance.

By chance, as a Breeding Company, we have the opportunity to collect field data from various Companies/ Cooperatives (all named “Companies” in the text) from South Brazil, on a monthly basis. Obviously, these data are processed anonymously and combined in such a way that it's impossible to find out their origin. Data of all the breeds involved are mixed, as comparing breeds is not the purpose of this paper.

Graphs 3 and 4 are a synthesis of 18 to 30 months of broiler performances for these Companies. 3 of them are using a mix of open and tunnel houses; one is using only open houses and one only tunnel houses.

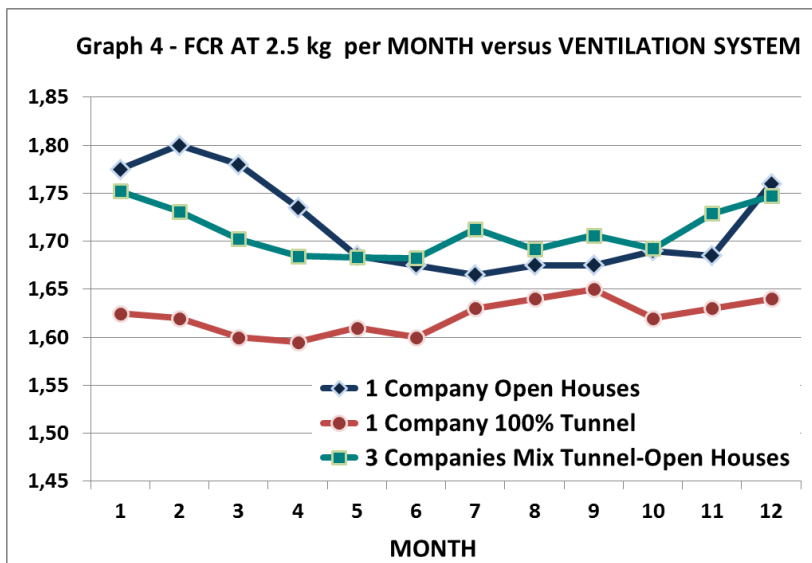
Graph 3 shows the standardized age at 2.5 kg LW per month of processing.

- ✓ The Company running only open houses gets a difference of 3 days between July-August and February-March.
- ✓ The Companies running a mix of open and tunnel houses gets a difference of 2 days between January and June to September.
- ✓ The Company running 100% tunnel houses has only one day difference along the year.
- ✓ It is interesting to note that the growth speed of all these Companies is very similar for flocks processed in July and August but there is a 2 to 3 days difference in summer.



Graph 4 shows the FCR standardized at 2.5 kg LW for the same Companies. The FCR trend is very similar to the one shown for growth. The difference of FCR between Companies is less than 5 points in winter and reaches more than 15 points in summer. The Company running 100% tunnel houses has very uniform FCR all along the year. Its FCR seems to be slightly higher in July to September, which corresponds to the coldest period. At least, it can be said that the seasonal effect on performances can be almost overcome in South Brazil, with good housing and management.





These differences are not only due to the type of ventilation but also to the quality of management. The region where the Company is operating (latitude, altitude and distance from the sea) explains partially why a Company is running open or tunnel houses. Growth and FCR is only part of the performance. Productivity, synthesized by the number kg LW produced/m<sup>2</sup>/cycle is also higher in tunnel houses than in open ones.

Tunnel ventilation is a very efficient system to grow heavy broilers, especially during the warm season. Nevertheless, there are very big differences in design and operational quality of so called “tunnel houses”.

## **Basic design of good tunnel house**

Keeping birds at thermal comfort whatever their age and the climatic conditions is the basic of any poultry house. We want the house to warm up the birds at the lowest cost, to give them similar environment everywhere they are in the house, to be protected from the sun ray heat in summer, to exhaust the heat produced by birds and to cool the birds whenever they feel too warm.

Let's review these expectations one by one and see how to meet them.

### **Heating/insulation**

Wood heating system is quite specific to Brazil. Raw wood, generally Eucalyptus, is quite cheap even if nowadays there is a competition with the industry for the use of wood, in some areas. On the other hand, growers would like an automatic system to feed their heaters, especially as most of the farms are becoming bigger. This is only possible with processed wood (pellets or coarse shavings). Whatever the form, it will increase the cost per kilowatt-hour produced from wood.

This trend may make the use of insulation materials more profitable for growers. Until now broiler houses are only insulated from the outside by a polypropylene curtain. The R-Value, measuring the resistance in heat transfer between the 2 faces of 1 m<sup>2</sup> of insulation material per hour is around 0.20 m<sup>2</sup>.Kelvin per Watt (m<sup>2</sup>K/W). Adding a 8 cm mineral wool roll above the ceiling which accounts for more than 60% of heat conductive losses, would raise the R-value of the ceiling to 2.3 m<sup>2</sup>K/W and reduce the energy expenditure of any poultry house by more than 60%. The double curtain, of which more and more side walls are made, has a quite high conductive heat resistance if designed properly. So, there is not much to gain on side walls insulation.

### **Uniform conditions everywhere in the house**

Visiting a Brazilian typical tunnel houses by early morning in winter, when birds are around 20 days is very informative. Birds are really chilled in the first third of the house as the whole fresh air enters from tunnel inlets. The middle of the house is generally comfortable and the fans' end is a bit warm.

Some Companies have just started to install inlets on both sides of the length of the house. These inlets are especially made to be fixed on curtain wall sides or ceilings. The development of side inlets will help winter ventilation a lot if they are linked to a motor and monitored by static pressure.

### **Protection from sun rays radiating heat in summer**

Sun shines 5 to 8 hours per day in spring and summer and 4 to 6 hours in autumn and winter, in South Brazil. These sun rays are helpful to reduce heating cost in winter but they are adding undesirable extra heat to the buildings when birds are feathered, during the rest of the year.

These radiation are not or very little, coming from the ceiling. In fact, at least when the roof is made of tiles, attic is big and ventilated; the temperature of the ceiling inside the house is not different from the temperature of the air inside the house. This means that radiations are negligible.

Reversely, the temperature of the side wall exposed to the sun rays is often 3-4°C higher than room temperature, meaning that heat is entering the house through radiation.

Good exposure: East-West helps reducing radiations on side walls. Supplementary techniques preventing these radiations are well-known and implemented in many Companies, especially in open houses. In tunnel houses, the need for protection against radiations is less perceived but is as important. The radiation screens are made of trees and big roof eaves.

### **Dilution of heat produced inside the house**

Modern broilers are growing faster and faster because they are able to eat more feed per day. The overall energy yield of the broiler engine is around 30%. It means that 70% of the energy content of the feed is released in the environment under both latent and sensible heat forms. Latent heat represents the energy released through evaporation of water in the lungs, around 6 watts per kg LW per hour.

Sensible heat represents the transfer of heat by radiation, conduction and convection from the body to the environment. It increases the temperature of the surrounding air and also the litter temperature when broilers are lying down. A broiler older than 30 days releases around 4 watts / kg LW / hour under normal

conditions. Birds represent the major part of the heat produced in a house but not the only one: lighting and sun radiations are 2 other sources of heat to be reduced as much as possible. Avoid incandescent lighting and reduce sun radiations as much as possible.

The difference in temperature between the 2 ends of a tunnel house is considered normal when it's less than 3 °C when birds are at market weight. This almost never happens in South Brazil, due to the quite low actual ventilation capacity installed and the low insulation properties of the houses. The actual air flow capacity in typical tunnel house in South Brazil is around 110 to 160 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/hour. With such flow, and some sun radiations, the difference in temperature between the 2 ends of a house is 3 to 5 °C without fogging.

It's the reason why all broiler growers are spraying water inside and along their house: 1 g of water evaporated in one m<sup>3</sup> of air reduces its temperature by 2°C and increase its humidity by 10%. As Brazilian climate is dry when hot, this technique is working well as long as the air flow induces enough air speed at bird level.

The most common technique involves a 5 kg pressure pump and 80 to 140 nozzles for 1500 m<sup>2</sup>. Some growers use a 15 kg pressure and adapted nozzles: the higher the pressure, the finer the droplets, so the faster and better the evaporation of water. Whatever the pressure, the pump is running alternatively on timer or based on humidity. Short cycles produce a more uniform cooling but are more challenging for the equipment. When 2 or 3 water circuits are combined along the house, the cooling can be adjusted to the age of birds and weather: one circuit opened first when birds are young, then 2 when birds are older but weather is not very warm, then 3 when conditions are tougher and the air flow at its maximum.

Inside fogging is very helpful to compensate part of the missing air flow, especially in conditions where sun radiations are high. Nevertheless, air flow is also necessary to create air speed.

### **Cooling the birds**

Air speed is the best poultry cooling factor. For 2.6 to 3.0 kg broilers, like those mostly grown in South Brazil, an air speed of 3.0 to 3.5 m/sec should be the target, with some deviation depending on local conditions. Most of the poultry houses I visited in Brazil have a maximum air speed capacity of 2.0 to 2.6 m/sec.

Increasing air speed without increasing the air flow is possible by reducing the cross section. Deflectors are particularly profitable in houses shorter than 100 m where the air flow/m<sup>2</sup> is naturally high. It's also interesting in longer houses to better distribute the air speed across the house. In this case, there is an ideal deflector height which combines the objectives of heat dilution and air speed. One should always remember that low deflectors are increasing static pressure more, putting more load on the fans, so reducing their exhausting capacity. Deflectors are generally placed every 6-8 meters in the length of the house in Brazil. This seems a good distance to minimize the static pressure raise.

We can't speak about air speed and dilution of heat without having a look at the fans. The quality of the fans available in the market is very variable for their energy efficiency as well as their capacity to sustain high static pressure. The best fans for the energy efficiency factor are never the best for the resistance to static pressure. In houses with pad cooling cells, more attention has to be paid to fan selection because average static pressure is approximately 20 pascals higher than without pad cells.

Above 30°C the air speed is still necessary but not sufficient anymore to cool heavy broilers. The air moving around the birds can't get the whole energy released by birds because there is not enough temperature difference between this air and birds' surface temperature. So birds' internal temperature rises and birds are reducing feed consumption and growth. At this stage, evaporative cooling is the only solution.

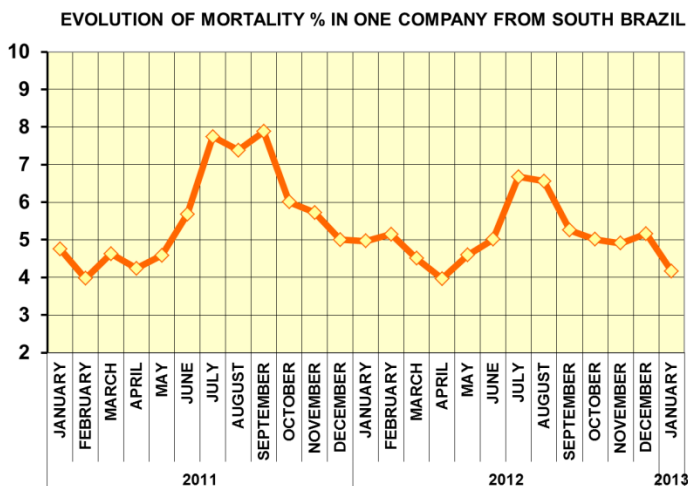
Artisanal or cellulosic cooling system? "Ceramic" or "windscreen net" cooling systems, where low pressure water is sprayed on a wall of open tiles or a windscreen net, can reduce the incoming air temperature by 3 to 4 °C while cellulosic pad cells can reduce the temperature by more than 10 °C. A good artisanal cooling at air entrance and a good multi stages inside fogging at 15 bars pressure is already doing a good job to keep the air temperature below 30°C. On top of this, it's to the air speed to do the rest of the job. Cellulosic pad cooling is still too young in the market to assess the whole advantages it can provide.

## 2 examples of mismanagement of modern broiler houses

A good house is never a guarantee of success. Often, the human being relies too much on technology and doesn't challenge it enough. The 2 examples thereafter are not anecdotic. The first one is related to minimum ventilation in winter, the second to pad cooling management.

### Minimum ventilation management

Several Companies are experiencing high mortality in winter due to blindness, ascites, overall infections and selection. Basically, these issues are related to high ammonia levels and cold drafts.



Such a mortality pattern involves several reasons and it's difficult to rank the reasons but some management techniques are favoring it.

The first reason is ammonia. Ammonia treatments never succeeded to develop in the Brazilian market and not all Companies are able to increase the downtime period in order to compost the litter, so ammonia production maybe quite high at start in winter.

The biggest problem can come from the way the ammonia level is reduced more than from the ammonia itself. It is the case when the timer settings are inadequate. For example, running 2 tunnel fans 60 seconds on and 120 seconds off at 7 days leads to renew 50% of the air of the brooding space during each cycle. When the outside air is at 10°C, the brooding temperature drops dramatically before the heaters are able to compensate.

Also when 2 tunnel fans are running at the same time, the air speed in the brooding area is around 0.8 m/sec if deflectors are not lifted up. This high air speed is chilling furthermore the chicks. So chicks are coping with up and down temperatures and still then high air speed. It's the ideal conditions for higher culling and unevenness.

It's difficult to comment about the air renewing rate which is around 5 m<sup>3</sup>/kg LW/hour for this example because there is no follow up of ammonia level. Obviously, it's much more than required to exhaust humidity. Such renewing rate is affordable only if the grower has a very cheap fuel source like wood.

Running only one fan and reducing the cycle length will reduce the air speed and keep the temperature more stable.

### **Pad cooling management**

Pad cooling technology is very new in Brazil for broiler houses. It can be used from day old until the end of the flock provided that the water pump setting is adjusted accordingly.

The following succession of events was observed in November 2012 in the State of Sao Paulo, in a farm housing 20 day old broilers:

- ✓ T0: The house temperature is 28°C. 6 fans are running, creating an average air speed of 1.6 m/sec. The outside temperature is 25°C, the sun shines, radiating on side curtains and birds are releasing heat in the house. Thus, the temperature is going on increasing.
- ✓ T1: the average temperature inside the house reaches 29°C, the pad cooling pumps starts.
- ✓ T2: after a couple of minutes, we feel the cooling effect of the pad but it takes another couple of minutes for the sensors to record the drop in temperature.
- ✓ T3: the pad pump stops but there is quite a lot of water inside the pad, so the temperature goes on dropping.
- ✓ T4: fans are stopping one after another, until they all stop. The pad curtain closes and side wall inlets are opening. At this stage, the temperature inside the house is 25°C.

- ✓ T5: the ventilation is on timer and the incoming air is coming from side wall inlets, so the house temperature is starting to rise again. Fans are starting one after one until they are 6.
- ✓ T6: The pad pump is starting again.

This pattern has been seen several times with various ages of birds in recently built houses in South Brazil.

Whatever the age, the pad cooling pump should be set to run for very short periods when the pad temperature set point is just over passed. When the temperature is going on increasing, the pad should run more time each cycle. This way, the pad pump running time can be adjusted to the cooling need. As a consequence, when the settings are good, it prevents that several fans stop, reducing the air speed.

Evaporative cooling should never replace air speed. Nevertheless, evaporative cooling is very helpful to increase the effect of air speed by keeping the air temperature below 30°C.

## **Conclusion**

The tunnel houses developed in South Brazil, based on yellow or blue curtain side wall and ceiling, without insulation but with artisanal evaporative cooling, quite low maximum fan capacity compensated by deflectors and inside low pressure fogging have proven to work fine when well managed.

Nevertheless, most of these typical tunnel houses are less than 125 m long and used with average stocking density (< 33-35 kg /m<sup>2</sup>). Darkening the houses may save some FCR. The gain can be estimated at around 5 points. Darkening will also make possible some increase in stocking density without leading to more scratches, if managed properly. Darkening means possible control of behavior provided that lighting equipment is fully dimmable, uniform and of good quality. Not so simple.

The natural increase in house size, because it reduces live weight cost and is made possible by the big size of processing plants, will challenge a bit more this concept.

Already, a lot of efforts have been made to improve the sealing of the houses. Nowadays, side wall inlets are appearing in the field to improve winter ventilation.



More attention should be given to the selection of fans which are the actual engines of a tunnel ventilated house. In bigger, so longer, houses with often pad cooling or artisanal cooling, higher maximum air speed (3.0 to 3.5 m/sec), the static pressure will be increased.

Deflectors will remain helpful but should be reduced in size, in order not to increase too much the static pressure along the houses which are becoming more often 150 m long. Deflectors of 40 cm every 6 meters, at 2.60 m height will help distributing the air speed in the overall house provided that fans will be able to sustain the added static pressure. Anyway, fan with an Air Flow Ratio <sup>(1)</sup> higher than 75% are to be selected. Amongst them, energy efficiency has to be compared as well as maintenance cost, reliability, robustness and type of shutter and after sales service.

Inside fogging is providing a real added value in this type of housing. Moving toward higher water pressure would improve the control of mist size and reduce water spillage and litter wetness. Inside fogging has the potential to compensate for some radiating heat due to the house structure made of curtain. Nevertheless, ceiling insulation with 8 cm mineral wool rolls would improve the energy efficiency of the house especially in winter season, making easier the use of more elaborated forms of wood.

(1) Air Flow Ratio: air flow at 50 pascals divided by air flow at 12 pascals.

## **SUSTENTABILIDADE: CUSTOS PARA A INDÚSTRIA E IMPORTÂNCIA NO CONTEXTO PRODUTIVO E SOCIAL**

**Clever Àvila**

O material não foi recebido em tempo hábil para publicação nos anais.

## **IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE E DO MANEJO DA ÁGUA NA PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

**Everton Krabbe<sup>1</sup> e Alessandra Romani<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Eng. Agr., D.Sc., Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves*

*<sup>2</sup>Graduanda Zootecnia - IFMT*

### **Introdução**

A água é um nutriente vital e está envolvido como principal participante em muitas funções fisiológicas importantes do organismo do animal. Mas normalmente, não se dá importância para a qualidade e a quantidade de água que é oferecida aos animais, entretanto, problemas de desempenho podem ser atribuídos a este componente nutricional.

Representa 70% do peso de uma ave. Deste volume, 70% localiza-se dentro das células e os restantes 30% correspondem a fluidos extra celulares e sangue. Portanto, para um GPD de 55 g, este frango armazena 38 g de água e 17 g de outros compostos (proteínas, gordura, minerais). Entretanto, para reter estas 38 g de água diárias, esta ave consumiu entre 75 a 115 g de água, ou seja, 2 a 3 vezes a ingestão de ração. Com base nestes dados, pode-se observar que a qualidade e a quantidade de água disponível para frangos de corte é de extrema importância.

Por outro lado, a avicultura de corte vem incorporando um nível tecnológico crescente ao longo dos anos, com expressivos investimentos em ambiência, nutrição e manejo. A qualidade da água, apesar de ter havido maior cuidado com procedimentos como cloração, adoção de sistemas de bebedouros tipo nipple, ainda assim deixa margem para melhorias.

O objetivo deste texto é abordar conceitos que são de grande importância para a produção de aves de corte e remeter o leitor a uma reflexão sobre o status atual e as oportunidades de melhorias.

## Qualidade da água

A água de má qualidade representa um grande risco à saúde dos animais, fazendo com que ocorra a redução no consumo de ração, problemas sanitários e até a morte.

Quando nos referimos a qualidade de água normalmente pensamos sobre o aspecto químico e microbiológico. Existem padrões estabelecidos para qualificar a água quanto a viabilidade de seu uso na produção animal (Tabela 1).

**Tabela 1.** Níveis indicativos de qualidade da água para avicultura

Parâmetro	Valor máx. permitido
Sólidos dissolvidos totais – SDT (mg/L)	500
pH	6,0 a 9,0
Dureza total (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	110
Cloreto (mg Cl/L)	250
Nitratos (mg N/L)	10
Sulfatos (mg SO <sub>4</sub> /L)	250
<i>Escherichia coli</i> (organismos/100 mL)	zero

Fonte: Mouchrek, 2012.

No Brasil, o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) estabelece os principais critérios quanto a classificação das fontes e padrões de qualidade de água.

Como tratamento convencional recomenda-se a filtração e a desinfecção. A filtração consiste na separação de contaminantes em suspensão, já a desinfecção é um processo de destruição seletiva dos organismos causadores de enfermidades pela adição de um desinfetante, onde se utiliza principalmente a clarificação que melhora a qualidade devido ao seu poder bactericida. Entretanto, protozoários e enterovírus são menos afetados pelo cloro. Também é importante lembrar que substâncias como nitrito, ferro, hidrogênio, amônia e matéria orgânica diminuem a ação do cloro. Maior o nível

do pH da água, maior a necessidade de cloro como desinfetante. Entretanto, excessiva cloração altera o gosto da água e pode comprometer o seu consumo e o desempenho dos frangos.

Entretanto, parâmetros físicos são de grande importância. O aspecto temperatura de água, que será abordado ao discorrer do trabalho, é de fundamental importância para aves, embora ainda se conheça o tema de forma limitada.

## **Consumo de água**

O consumo de água é um ótimo indicador de bem estar e sanidade das aves. Mas na maioria das vezes pode afetar drasticamente o bom desempenho, principalmente se for disponibilizado em quantidade e qualidade insuficiente para o metabolismo do animal.

A água consumida deve ficar em equilíbrio com as perdas, para que a desidratação e o decréscimo na produção não ocorram. O organismo das aves tem adaptação específicas em razão das condições a que são submetidas. Assim, as condições de estresse pelo calor, pelo frio, alterações na composição dos alimentos, dentre outras, fazem com que ocorram ajustes fisiológicos no organismo, sendo que estas alterações estão relacionadas a manutenção do equilíbrio hídrico.

O consumo de água é diretamente relacionado com a idade das aves, condições de produção e ambientais (Tabela 2), onde aves mais velhas consomem mais água que aves jovens, porém, quando determinado por unidade de peso vivo, o consumo de água/kg de peso vivo cai com o passar do tempo. Isso mostra o quanto à água é importante nas primeiras fases de desenvolvimento dos frangos. O impacto da temperatura ambiental é muito forte sobre o consumo de água, desta forma, uma boa ambiência afeta o consumo de água, assim como água a uma correta temperatura ameniza condições de ambiência deficientes.

**Tabela 2.** Ingestão diária (litros/1.000 aves) de água em diferentes temperaturas e tipos de aves

Ave	Idade (semanas)	Temperatura Ambiente (c°)	
		20	32
Franga Leghorn	4	50	85
	12	115	190
	18	140	220
	50% Produção	180	340
Poedeiras	90% Produção	200	400
	0% Produção	150	250
Frangos de Corte	1	24	50
	3	100	210
	6	280	600

Fonte: adaptado de Lesson e Summers (1991).

É incontestável que quando a ave possui disponibilidade de água em qualidade e quantidade adequadas, apresentará melhor desempenho. Outro importante fator de influência na ingestão da água é a temperatura da mesma, onde se pode observar na Tabela 3, para aves sob estresse calórico, quanto menor a temperatura da água, maior o ganho de peso, aumento no consumo de água e diminuição da temperatura corporal, proporcionando a ave melhores condições de bem estar.

**Tabela 3.** Efeito da Temperatura da água sobre ganho de peso, consumo de água e temperatura corporal de frangos de corte mantidos em estresse calórico.

<b>Temperatura Água (°C)</b>	<b>Ganho Peso (g)</b>	<b>Consumo de Água mL/dia</b>	<b>Temperatura Corporal (°C)</b>
<b>12,7</b>	55,4	364	42,8
<b>31,1</b>	50,3	359	43,1
<b>42,2</b>	47,0	364	43,3

Fonte: Teeter (1994)

Outro importante fator a ser levado em consideração quando falamos de consumo de água é o tipo de bebedouro disponível para as aves. Existem varios modelos no mercado, mas independente do tipo, devem ser sempre mantidos limpos, com água fresca e em quantidades suficientes para atender a demanda dos animais. Observa-se grande diferença no padrão de ingestão de água entre os tipos de bebedouros. Bebedouros tipo nipple apresentam um consumo menor em comparação com bebedouros abertos (calha ou pendular), a exemplo da Tabela 4.

Para bebedouros tipo nipple, especial atenção deve ser dada a correta regulação para que apresentem uma correta vazão conforme a idade das aves. Para isso é importante seguir a recomendação dos fabricantes.

**Tabela 4.** Temperatura ambiente, temperatura da água, consumo de água e consumo de ração em poedeiras criadas com dois tipos de bebedouro.

Semana	Temp. Ambiente (c°)		Temp. Água (c°)		Consumo de água mL/ave/dia		Consumo de ração g/ave/dia	
	Máx	Mín	Taça	Nipple	Taça	Nipple	Taça	Nipple
<b>1</b>	30,9	21,9	*	*	241	210	96,4	99,4
<b>2</b>	34,6	24,7	34,0	33,5	255	215	94,2	97,7
<b>3</b>	30,5	22,6	32,0	31,0	224	191	110,3	109,1
<b>4</b>	30,4	23,2	30,3	29,6	232	190	105,6	110,6
<b>5</b>	29,2	23,5	30,2	29,6	220	198	112,7	113,6
<b>6</b>	31,6	23,5	32,1	31,2	232	185	99,1	102,0
<b>7</b>	31,7	22,8	31,4	29,6	233	207	103,3	105,5
<b>8</b>	32,9	24,8	32,6	31,8	238	208	111,6	114,5
<b>9</b>	33,8	23,7	34,1	33,1	252	206	92,6	93,0
<b>Média</b>	31,7	23,4	32,0	31,1	236	201	102,9	105,0

\* Dados não coletados.

Fonte: adaptado de Togashi e Cols (2008).

Togashi e Cols (2008) observaram que bebedouros tipo taça resultaram em um consumo superior da ordem de 35 mL/ave/dia, comparados as aves que utilizavam bebedouros tipo nipple, e tendência a um menor consumo de ração, em relação a aves que tinham acesso ao bebedouro tipo taça. Já a temperatura da água não teve relação com o tipo de bebedouro, apenas influenciada pela temperatura ambiente, importante informação que deve ser levada em conta durante o estresse calórico.



Em condições de altas temperaturas, as aves ingerem mais água para atender a demanda de resfriamento, no entanto diminuem a ingestão se a água estiver com a temperatura elevada. Sendo assim, recomenda-se que a água de bebida deve sempre estar na temperatura entre 20 a 24°C, o que sob condições práticas de campo, nem sempre ocorre, especialmente no verão.

O fluxo de água do bebedouro pode influenciar significativamente o seu consumo. Independente do tipo de bebedouro, ele deve ser regulado de acordo com a idade da ave, e ser regularmente limpo, para que favoreça sua ingestão.

## **Manejo da água**

O fornecimento de água é uma questão de bem estar animal. Além disso, aves que não bebem não comem. Portanto, se por alguma razão houver uma redução do consumo (seja por qualidade ou por disponibilidade) ocorre também uma redução do consumo de alimento, implicando em perda de ganho de peso e um mau desempenho zootécnico.

Sugere-se que se realizem exames laboratoriais para avaliação criteriosa da água oferecida as aves, e que também os avicultores regulem as linhas de águas, impedindo a formação de biofilmes e protegendo as aves contra contaminação química e biológica.

Para a limpeza e desinfecção, utilizar fluxo de água em alta pressão, cloração de choque com 200 ppm de cloro, ácido cítrico, peróxido de hidrogênio, ácido acético, compostos de iodo ou produtos comerciais destinados para esse fim, considerando a presença ou não de aves (CARTER e SNEED, 2011).

## **Oportunidades de melhorias na qualidade e disponibilidade de água**

Ao longo dos anos, tem sido observado empenho por parte da agroindústria no sentido de melhorias de qualidade de água. Atenção especial tem sido dada a questões como: fontes de água de melhor qualidade; melhorias nas características dos reservatórios de água; modernização dos sistemas de bebedouros e tratamento da água com cloro e eventualmente ácidos orgânicos e outros produtos.

Entretanto, avanços nas questões físicas da água aparentam ser uma das grandes oportunidades de avanço na avicultura moderna. A exemplo dos investimentos em climatização de galpões, investimentos em sistemas de resfriamento e aquecimento de água se mostram como oportunos. Também o desenvolvimento de sistemas eletrônicos que façam ajustes de níveis de cloro, pH, temperatura em linha, deverão estar sendo desenvolvidos ao longo dos próximos anos. A captação de água e o balanço hídrico ou eficiência hídrica será um dos aspectos a serem considerados no futuro. Por isso, sistemas que permitam armazenamento da água de chuva também passarão a ter importância nos sistemas produtivos.

## **Considerações finais**

A água é um recurso indispensável na produção de frangos. A sua qualidade e disponibilidade são determinantes do desempenho animal. Formas de otimização da conversão de água em proteína animal serão considerados como pontos chave para a sustentabilidade da cadeia. Apesar dos avanços tecnológicos ao longo dos últimos anos, existem ainda muitas oportunidades de melhorias que trarão benefícios sanitários, nutricionais, de bem estar e segurança alimentar.

## **Referências bibliográficas**

- BELL, D.D.; WEAVER JR., W.D. 2002. Commercial chicken meat and egg production, 5<sup>th</sup> Ed., Massachusetts, USA, 1365 p.
- CARTER, T. A. SNEED, R. E. Drinking water quality for poultry. Marc 27, Cited 2011.
- MACARI, M.; SOARES, N.M. 2012. Água na Avicultura Industrial, 2<sup>a</sup> Ed, FACTA, Campinas, Brasil, 359 p.
- LEESON, S. SUMMERS, J.D. 2001. Nutrition of the Chicken, 4th Ed., Ontario, Canada, 591 p.
- LEESON, S. & SAMMERS, J. D. Commercial Poultry Nutrition. Canada : University Books, P.283. 1991.
- MOUCHREK, E. Legislação sobre o uso da água na aviculture. In: Água na Avicultura Industrial, FACTA, 2<sup>a</sup> Ed. 2012.
- TEETER, R. G. Optimizing production of heat stressed broilers. Poultry Digest, 53:10-27, 1994.
- TOGASHI, C. K. et al. Effect of the drinking system on water quality and laying hen performance and egg quality. Revista Brasileira de Zootecnia, 37:1450-1455, 2008.

## **EFICIÊNCIA DA PELETIZAÇÃO E O IMPACTO NOS RESULTADOS ZOOTÉCNICOS**

**Andréia Massuquetto<sup>1</sup> e Alex Maiorka<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua dos Funcionários, 1540, CEP 80 035-050, Curitiba, Paraná, Brasil.*

*E-mail: [a\\_massuquetto@zootecnista.com.br](mailto:a_massuquetto@zootecnista.com.br)*

*<sup>2</sup>Professor Associado do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua dos Funcionários, 1540, CEP 80 035-050, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: [amaiorka@ufpr.br](mailto:amaiorka@ufpr.br)*

### **Introdução**

O processamento térmico de rações pode favorecer o aproveitamento dos ingredientes e modificar a forma de fornecimento para os animais, sendo a peletização um dos processos mais utilizados na indústria avícola brasileira.

Apesar disso, ainda existem muitas dúvidas sobre a efetividade dos resultados esperados, o que se deve à complexidade do processo que envolve múltiplos fatores. Frente à necessidade de informações sobre assunto inúmeras pesquisas têm sido realizadas para tentar elucidar os mecanismos que podem fazer com que o aproveitamento dos ingredientes seja melhorado.

Considerando a importância da peletização para a produção animal, serão discutidos alguns parâmetros que influenciam este processo bem como o seu impacto sobre os resultados zootécnicos.

## **Peletização de rações**

A peletização pode ser definida como a aglomeração de pequenas partículas em partículas maiores por meio de processos mecânicos, em combinação com umidade, pressão e calor (FALK, 1985).

Segundo BEHNKE (1994), a peletização de rações traz diversas vantagens para a nutrição animal quando comparada à forma física farelada, como: diminuição do desperdício de ração, redução da segregação de ingredientes, diminuição de microrganismos, melhora na preferência pelos animais, redução da seletividade, facilidade de apreensão da dieta, aumento da energia produtiva em função do menor tempo gasto para consumo e melhora na digestibilidade de diferentes frações da dieta.

Apesar dos benefícios gerados pela peletização, implantar esta tecnologia requer investimentos e onera a ração em torno de 2%, consistindo num processo de grande demanda de energia e de capital na fábrica de ração. A peletização pode influenciar o rendimento da fábrica de rações principalmente se esta não for bem planejada e dimensionada, e trabalhar numa margem de produção acima de sua capacidade, o que acontece na maioria das agroindústrias brasileiras (MEINERZ et al., 2001).

Vários parâmetros estão relacionados com a qualidade do processo de peletização, dentre eles destacam-se: a formulação da dieta, granulometria, condicionamento, fatores relacionados à matriz da peletizadora, e processos de resfriamento e secagem.

## **Consumo de ração**

A peletização proporciona aumento de consumo de ração devido a maior facilidade de apreensão da dieta. Esse aumento é evidenciado principalmente em frangos de corte que, por possuírem preferência por partículas maiores, consomem maior quantidade de ração peletizada em comparação à farelada. Além disso, a peletização promove adensamento dos ingredientes utilizados na ração, resultando em maior consumo de nutrientes.

ABDOLLAHI et al. (2011) relatou aumento de 14% no consumo de ração de frangos de corte alimentados com dietas peletizadas durante a fase inicial (1-21 dias). Trabalhando também com frangos de corte na fase inicial, FREITAS et al. (2008) verificaram a importância do efeito da forma física da ração (farelada, triturada e peletizada) sobre o desempenho de frangos de corte na primeira semana de vida. Os pesquisadores concluíram que a utilização de ração peletizada e peletizada/triturada resultou em melhora no consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar quando comparadas com uma ração farelada para pintainhos na primeira semana de vida (Tabela 1).

**Tabela 1.** Desempenho de pintos de corte na primeira semana alimentados com rações pré-iniciais de diferentes formas físicas

Item	Forma física			CV (%)
	Farelada	Triturada	Peletizada	
Peso final (g/ave)	167,64 <sup>b</sup>	190,32 <sup>a</sup>	186,44 <sup>a</sup>	2,17
Ganho de peso (g/ave)	121,36 <sup>b</sup>	144,12 <sup>a</sup>	139,76 <sup>a</sup>	2,70
Consumo (g/ave)	140,04 <sup>b</sup>	153,92 <sup>a</sup>	149,68 <sup>a</sup>	3,32
Conversão Alimentar	1,15 <sup>a</sup>	1,07 <sup>b</sup>	1,07 <sup>b</sup>	1,31

Adaptado de Freitas et al., 2008

MEINERZ et al. (2001) trabalharam com oferta alimentar equalizada para frangos de corte de 21 a 42 dias de idade, onde a quantidade ofertada de ração peletizada foi baseada no consumo de ração farelada, e observaram desempenho semelhante para dietas peletizadas e fareladas quando há imposição de controle alimentar. Os autores também concluem que o principal efeito da peletização é proporcionar maior consumo de ração pela maior facilidade de apreensão de ração peletizada pelas aves.

De acordo com KLEIN (1996) e MAIORKA (1998), dietas peletizadas favorecem o consumo de ração e a eficiência de retenção da energia metabolizável aparente, em comparação com a forma física farelada. Porém, constataram que frangos de corte que consomem rações peletizadas apresentam maior quantidade de gordura, tanto sob a forma de gordura abdominal quanto em relação à gordura total da carcaça e vísceras. MAIORKA (1998) sugere que o uso de dietas diluídas energeticamente, mas peletizadas possam corrigir o excesso de gordura na carcaça, através da redução final no consumo de energia.

Dessa forma, em função do maior consumo que a ave apresenta com rações peletizadas, é possível utilizar rações menos energéticas como forma de compensar o aumento no custo de produção da ração. LECZNIESKI et al. (2001) avaliou a influência dos níveis de energia (2.8, 2.9, 3.0, 3.1 e 3.2 Mcal EM/kg de ração) e da forma física da ração (peletizada, sem a presença de finos; e farelada) no desempenho e na composição de carcaças de frangos de corte de 22 a 43 dias de idade. A peletização da ração proporcionou aumento no consumo, no ganho de peso e melhora na conversão alimentar e na conversão calórica das aves. Semelhante aos resultados encontrados por MAIORKA (1998) as aves alimentadas com ração peletizada apresentaram percentual de gordura (abdominal e moela) superior àquelas alimentadas com ração farelada. O autor observou que os efeitos da peletização foram menores à medida que se aumentou os níveis de energia das rações.

## **Digestibilidade de nutrientes**

O processo de peletização pode melhorar a digestibilidade de diferentes frações da dieta devido à ação combinada de umidade, temperatura e pressão.

No caso dos carboidratos, a digestibilidade pode ser aumentada, pois a temperatura desagrega os grânulos de amilose e amilopectina, facilitando a ação enzimática. Os processos térmicos também promovem alterações das estruturas terciárias naturais das proteínas, facilitando sua digestão posterior (DOZIER, 2001). Um dos principais benefícios da peletização é o aumento no valor de

energia metabolizável das rações decorrente da maior digestibilidade das frações da dieta (ZALENKA, 2003).

Analisando a utilização de nutrientes em pintos de corte alimentados na fase pré-inicial com rações de diferentes formas físicas (farelada, peletizada triturada e peletizada), FREITAS et al. (2008) observaram que as aves alimentadas com ração farelada apresentaram menor ingestão de energia e menores retenções de proteína, de gordura e de energia corporal em relação às alimentadas com as demais rações (Tabela 2).

**Tabela 2.** Energia metabolizável ingerida (EMI), retenção de EE (EER), de PB (PBR) e de energia (ER) na carcaça em pintos de corte alimentados com rações pré-iniciais de diferentes formas físicas

Item	Forma física			CV (%)
	Farelada	Triturada	Peletizada	
EMI (kcal/kg <sup>0,75</sup> /dia)	300,02 <sup>c</sup>	330,64 <sup>a</sup>	316,54 <sup>b</sup>	2,08
EER (g/kg <sup>0,75</sup> /dia)	4,89 <sup>b</sup>	6,60 <sup>a</sup>	6,77 <sup>a</sup>	5,53
PBR (g/kg <sup>0,75</sup> /dia)	14,42 <sup>c</sup>	16,44 <sup>a</sup>	15,43 <sup>b</sup>	3,36
ER (kcal/kg <sup>0,75</sup> /dia)	135,69 <sup>c</sup>	160,82 <sup>a</sup>	154,74 <sup>b</sup>	3,51

Adaptado de Freitas et al., 2008

LOPEZ et al. (2007) estudando os efeitos da forma física da ração (farelada, peletizada e peletizada expandida) sobre a digestibilidade dos nutrientes para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, verificaram que o processamento térmico das rações peletizadas e expandidas promovem melhora na digestibilidade da proteína e do extrato etéreo. SCOTT et al. (1997) também observaram aumento na digestibilidade da proteína em aves alimentadas com dieta peletizada, comparativamente à farelada, provavelmente porque rações peletizadas são submetidas à alta temperatura e pressão durante o condicionamento, rompendo as pontes de enxofre voláteis na estrutura da proteína, resultando em desnaturação e aumento da eficiência das enzimas endógenas.



## **Gelatinização do amido**

O amido dos cereais é a principal fonte de energia para a maioria dos animais domésticos, principalmente aves e a habilidade de digerir o amido varia de acordo com a idade destes animais. Portanto, dietas que contêm grande quantidade de cereais devem ser processadas com altas temperaturas, umidade e pressão para gelatinizar o amido do grão, tornando-o mais disponível (BELLAYER & NONES, 2000).

O amido é constituído de duas macromoléculas principais: a amilopectina, que é uma molécula ramificada e a amilose, molécula essencialmente linear. Os grânulos de amido apresentam birrefringência quando observados em microscópio óptico sob luz polarizada, o que indica certo grau de organização molecular. A parte linear das moléculas de amilopectina forma estruturas helicoidais duplas, estabilizadas por pontes de hidrogênio entre os grupamentos hidroxila, dando origem às regiões cristalinas dos grânulos. A região amorfa é composta pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina (VAN SOEST et al., 1995). Um dos processos que pode alterar as estruturas do amido é a gelatinização.

A gelatinização pode ser definida como a destruição irreversível da condição cristalina do grão de amido, de modo que a superfície de toda molécula fique acessível ao ataque de reagentes, solventes e enzimas (THEURER, 1986). A melhoria na utilização do amido é dependente principalmente dos tipos de processamento térmico (Tabela 3). Além disso, o grau de gelatinização pode variar de acordo com as fontes de amido utilizadas e da espécie animal.

**Tabela 3.** Variáveis do processamento térmico de rações

	Temperatura (°C)	Umidade (%)	Gelatinização do amido (%)
Peletização	60 – 100	12 – 18	15 - 30
Expansão/Peletização	90 – 130	12 – 18	20 – 55
Extrusão úmida condicionamento simples	80 – 140	15 – 35	80 – 100
Extrusão úmida condicionamento duplo	60 – 160	10 – 45	80 – 100

Adaptado de HANCOCK (1992)

De acordo com THOMAS & VAN DER POEL (1996), o principal fator que contribui para mudanças do amido é o vapor. Dessa forma, aumentando-se a pressão de vapor, aumenta-se o grau de gelatinização do amido e, com o tempo maior de permanência da ração durante o condicionamento, ocasiona-se melhor absorção da umidade e dilatação da partícula do amido, devido à hidratação. Durante o processo de condicionamento e peletização, a umidade absorvida pelos ingredientes, ajuda a romper as células que contém amido. Nestas etapas, de 10 a 200g de amido/kg são gelatinizados (SKOCH et al., 1981; MORITZ et al., 2002; SVIHUS et al., 2004). A gelatinização das moléculas de amido é peça chave para resultar na máxima adesão das partículas dos ingredientes na formação de um pelete durável (BELLAYER & NONES, 2000).

## Estrutura física

A peletização pode reduzir o gasto de energia de manutenção dos animais devido a menor necessidade de esforço físico para apreensão do alimento. JENSEN (1962) relata que frangos de corte gastam até três vezes mais tempo para ingerir a mesma quantidade de ração farelada, portanto, a energia que seria gasta para o consumo será disponibilizada para o ganho de peso.

MCKINNEY & TEETER (2004) utilizando rações contendo diferentes proporções de peletes íntegros e finos (100% peletizada, 80% peletizada, 60% peletizada, 40% peletizada, 20% peletizada, e 100% finos) para frangos de corte, constataram aumento na efetividade calórica e frequência de descanso, pois as aves gastam menos tempo para consumir a ração peletizada (peletes íntegros).

Avaliando o desempenho de frangos de corte aos 28 e 42 dias de idade alimentados com dietas de diferentes formas físicas (Tabela 4), CORZO et al. (2011) verificaram que aves alimentadas com dieta farelada apresentaram menor consumo de ração e peso corporal; e maior conversão alimentar quando comparadas às aves que consumiram as dietas contendo 32 e 64% de peletes íntegros.

**Tabela 4.** Desempenho de frangos de corte (peso corporal, consumo de ração e conversão alimentar) aos 28 e 42 dias de idade alimentados com dietas com diferentes teores de peletes íntegros

Item	d 28			d 42		
	PC (kg)	CR (kg)	CA	PC (kg)	CR (kg)	CA
Dieta						
Farelada	1.139 <sup>b</sup>	1.789 <sup>b</sup>	1.57 <sup>a</sup>	2.354 <sup>b</sup>	4.199 <sup>b</sup>	1.78 <sup>a</sup>
32% peletes	1.267 <sup>a</sup>	1.928 <sup>a</sup>	1.52 <sup>b</sup>	2.556 <sup>a</sup>	4.445 <sup>a</sup>	1.74 <sup>b</sup>
64% peletes	1.264 <sup>a</sup>	1.912 <sup>a</sup>	1.51 <sup>b</sup>	2.557 <sup>a</sup>	4.383 <sup>a</sup>	1.71 <sup>c</sup>
Probabilidade	0.001	0.01	<0.0001	<0.0001	0.01	<0.0001

Adaptado de CORZO et al., 2011

## **Qualidade física dos peletes**

A qualidade física do pelete pode ser definida como a capacidade do pelete de resistir à fragmentação e à abrasão durante o seu manuseio (armazenamento e transporte), sem quebrar-se e alcançar os alimentadores sem gerar alta proporção de finos (AMERAH, 2007).

Os principais parâmetros utilizados para se medir a qualidade dos peletes são a durabilidade e a dureza. De acordo com THOMAS & VAN DER POEL (1996), dureza é a força necessária para quebrar o pelete ou uma série de peletes em determinado tempo. Pode ser avaliada através dos testes Kahl ou Schleuniger. O equipamento utilizado para no teste é o durômetro. Já a durabilidade é avaliada pela quantidade de finos resultante do pelete após sujeito à agitação mecânica ou pneumática. O método de resistência ao desgaste (durabilidade) pode ser avaliado pelos métodos do Prof. Pfost (DLU/PDI) e pelo Método Holmen. O equipamento utilizado para no teste é o durabilímetro.

A durabilidade está diretamente relacionada à eficiência alimentar. A maior durabilidade dos peletes resulta em baixa formação de finos, redução do desperdício de ração e seleção de partículas maiores por aves. BRIGGS et al. (1999) concluíram em seu trabalho que ao aumentar a quantidade finos ocorre diminuição do PDI.

A qualidade física dos peletes é importante para parâmetros de desempenho. PROUDFOOT & SEFTON (1978) constataram diminuição de 150 g no peso corporal de frangos de corte aos 49 dias de idade alimentados com dietas peletizadas contendo 45% de finos em comparação com aqueles alimentados com dietas peletizadas que não contém finos. Do mesmo modo, KENNY (2008) compararam uma dieta controle (peletizada à base de trigo de boa qualidade) com dietas contendo 50 e 100% de finos. Os resultados mostraram que o uso de dietas peletizadas contendo 50 e 100% de finos reduziu o peso corporal em 7 e 20% respectivamente, em comparação ao controle.

## **Formulação**

O efeito da formulação sobre o processamento, principalmente a peletização, nem sempre é considerado pelos nutricionistas. As formulações de rações apresentam múltiplas possibilidades de combinação de ingredientes, e estes exigem diferentes tratamentos durante o processo de peletização.

Segundo KLEIN (2009), os diferentes tratamentos das matérias-primas que compõe a ração têm sua origem no seu comportamento ao sofrer ação da umidade, pressão e calor durante seu processamento. Além dos aspectos individuais dos ingredientes, podem-se destacar ainda alguns fatores decisivos que se constituem através da formulação (teor de gordura, teor de proteína, teor de minerais, dentre outros) e que são determinantes no processo da peletização.

Diferentes ingredientes necessitam de diferentes características no condicionador para gelatinizarem. Segundo FALK (1985), para que a gelatinização do amido ocorra, a temperatura de peletização deve ser de no mínimo 82°C e conter 18% de umidade, para dietas com grandes quantidades de grãos, podendo haver variações de acordo com diferentes equipamentos. Dietas contendo açúcares e produtos lácteos devem ser peletizadas com menor temperatura (60°C), pois acima disso pode ocorrer reação de Maillard.

BRIGGS et al. (1999) avaliaram a utilização de diferentes rações a base de milho e farelo de soja, com diferentes concentrações de proteína e gordura, sobre a qualidade dos peletes (PDI). Aumentar o teor de proteína na ração resultou em melhora na qualidade dos peletes, enquanto que o aumento no teor de óleo diminuiu a qualidade. Neste estudo, o limite máximo de inclusão de óleo para obter peletes aceitáveis foi de cerca de 5%, quando o conteúdo de proteína foi de 20%.

Os principais ingredientes que reduzem a qualidade dos peletes são gorduras e óleos, e farinhas de origem animal, quando incluídos em altas concentrações. O uso ingredientes com propriedades aglutinantes é uma alternativa para melhorar a qualidade física de rações peletizadas.

## **Proteínas funcionais**

Propriedades funcionais das proteínas são definidas como as propriedades físico-químicas que afetam o seu comportamento no alimento durante o preparo, processamento e armazenamento, e contribuem para a qualidade e atributos sensoriais dos alimentos (RIBEIRO & SERAVALLI, 2007). Dentre as propriedades que as proteínas conferem aos alimentos, a capacidade de formar uma massa viscoelástica é de grande importância para a produção de rações.

A farinha de trigo é processada e utilizada para diversos fins, como massas alimentícias, biscoitos, uso doméstico e principalmente panificação. Isso porque dentre as farinhas de cereais, apenas a de trigo forma uma massa viscoelástica capaz de reter o gás produzido durante a fermentação e nos primeiros estágios de cozimento do pão (NUNES et al., 2006). Devido a essa característica, o trigo pode ser utilizado na fabricação de rações peletizadas por possuir capacidade aglutinante, possibilitando que partículas individuais se fixem umas as outras.

A farinha de trigo possui proteínas: a gliadina e a glutenina. Estas proteínas apresentam características funcionais únicas, capazes de formar uma rede, o glúten. O glúten é formado quando a farinha de trigo misturada à água e sofre a ação de um trabalho mecânico. À medida que a água começa a interagir com as proteínas insolúveis da farinha de trigo (glutenina e gliadina) a rede de glúten começa a ser formada. Sendo assim o glúten é formado pela interação entre moléculas de gliadina e glutenina que ao se hidratarem formam uma rede. As gliadinas são proteínas de cadeia simples, extremamente pegajosas, responsáveis pela consistência e viscosidade da massa, e apresenta pouca resistência à extensão. As gluteninas, por sua vez, apresentam cadeias ramificadas, sendo responsáveis pela extensibilidade da massa (NUNES et al., 2006).

VARGAS et al. (2001) avaliaram o efeito do nível de trigo na dieta e do percentual de grãos germinados sobre a qualidade dos peletes (Tabela 5). Os autores verificaram que as dietas contendo trigo resultaram em maiores porcentagens de peletes do que a dieta a base de milho e farelo de soja.

**Tabela 5.** Contrastes entre as dietas com trigo e sem trigo, níveis de substituição (50 e 100%) do milho pelo trigo e entre porcentagens de grãos germinados (0, 4,5 e 9%), sobre a qualidade dos peletes (porcentagem de peletes)

Contrastes	Variável
	Peletes (%)
<b>Dietas</b>	
Sem trigo	75,60 <sup>b</sup>
Com trigo	82,23 <sup>a</sup>
<b>Substituição (%)</b>	
50	81,18 <sup>b</sup>
100	83,28 <sup>a</sup>
<b>Grãos germinados</b>	
0,0	81,85 <sup>b</sup>
4,5	82,78 <sup>a</sup>
9,0	82,08 <sup>b</sup>

Adaptado de VARGAS et al., 2000

## Granulometria

Na peletização quanto menor o diâmetro geométrico médio (DGM) das partículas, maior será a superfície de contato, por consequência, maior será a ação do vapor e, assim, maior a gelatinização do amido e a plastificação das proteínas (BELLAVAR & NONES, 2000). No entanto, existe discussão quanto ao uso de partículas menores para aves, uma vez que ao diminuir o tamanho das partículas pode haver diminuição no seu desempenho em função do menor aproveitamento da dieta. NIR et al. (1995) sugeriram que a degradação das partículas maiores no intestino delgado proximal é mais lenta, resultando em melhor aproveitamento da dieta. É importante destacar que a ração peletizada se dissolve do trato gastrointestinal dos animais tornando-se farelada.

A recomendação do DGM para frangos de corte é de 900 a 1300  $\mu\text{m}$  até 21 dias de criação e de 1300 a 1500  $\mu\text{m}$  até o abate (NIR & PTICHI, 2001). As aves têm preferência por partículas maiores em detrimento as de menor diâmetro. DAHLKE (2000) verificou em seu trabalho que o aumento do DGM de 0,336 para 1,12mm, independentemente da forma física, aumentou o consumo de ração, ganho de peso e melhorou a conversão alimentar. No entanto, verificou que o efeito da granulometria é mais visível nas rações fareladas do que nas peletizadas e os benefícios da peletização são mais evidenciados em relação à farelada, quando em ambas os ingredientes são finamente moídos.

Do ponto de vista de produção de rações, quanto maior o tamanho das partículas dos ingredientes maior a economia com energia e maior a eficiência (toneladas/hora) de moagem (BELLAYER & NONES, 2000). A utilização de partículas menores em rações favorece a peletização, resultando em: melhor qualidade dos peletes, maior produtividade, maior vazão do material pelos orifícios da matriz, redução do desgaste dos equipamentos e menor consumo de energia na peletização. AMERAH et al. (2007) compilou informações de trabalhos avaliando o DGM sobre a qualidade dos peletes (Tabela 6).



**Tabela 6.** Efeito do tamanho de partículas sobre a durabilidade dos peletes

Grão	DGM (µm)	PDI	Referência
Milho	910	91 <sup>a</sup>	Reece et al., 1986
	1024	91 <sup>a</sup>	
Milho	679	91 <sup>b</sup>	Reece et al., 1986
	987	91,3 <sup>b</sup>	
	1289	92,5 <sup>a</sup>	
Trigo	600	88 <sup>a</sup>	Svihus et al., 2004
	930	81,2 <sup>a</sup>	
	1700	80,2 <sup>a</sup>	
Trigo	380	25 <sup>a</sup>	Peron et al., 2005
	955	25 <sup>a</sup>	

Adaptado de AMERAH et al. (2007)

Assim, a granulometria torna-se importante para consumo alimentar e na nutrição, pois está diretamente relacionada com o desempenho animal e o processamento de rações.

### Condicionamento

Os principais parâmetros considerados no condicionamento são a temperatura, umidade e tempo. O tempo é obtido pelo tamanho do condicionador e a temperatura e quantidade de umidade são obtidas através da adição de vapor. De acordo com LARA (2010), as principais razões para o condicionamento são: diminuir o consumo de energia elétrica, aumentar a capacidade de produção, melhorar a qualidade dos peletes, redução microbiológica e melhora na digestibilidade.

O tratamento térmico adequado de rações melhora o seu valor nutritivo, o que pode ser atribuído à gelatinização do amido, degradação termolável de fatores antinutricionais, destruição da parede celular e melhoria na disponibilidade de diferentes frações da

dieta (SILVERSIDES & BEDFORD, 1999). SVIHUS et al. (2005) afirmou que aumentando-se o tempo e temperatura de condicionamento, a gelatinização do amido tende a aumentar, independente do cereal base usado. ABDOLLAHI et al. (2010) também avaliou os efeitos de diferentes temperaturas de condicionamento (60, 75 e 90°C) sobre a gelatinização do amido. Os autores observaram que em dietas a base de milho, a gelatinização foi maior em rações peletizadas a 90°C em comparação com as demais temperaturas. Afirmaram também, que parte da gelatinização do amido ocorre após o condicionamento, na prensa peletizadora, devido a alta temperatura e atrito.

Em relação ao tempo de condicionamento, existe variação de nove segundos a três minutos dependendo da fórmula utilizada. Segundo KLEIN (2009), se o tempo, a determinada temperatura, for curto, não se obtém os benefícios esperados. Porém, se o tempo for demasiadamente longo, sérios prejuízos podem ocorrer a alguns componentes da ração.

O condicionamento ainda exerce influência sobre a qualidade dos peletes. ABDOLLAHI et al. (2010) avaliaram o efeito da temperatura de condicionamento sobre qualidade dos peletes de dietas a base de milho e sorgo para frangos de corte na fase inicial. Os autores observaram que o aumento da temperatura de 75 para 90°C resulta em melhora no PDI para ambas as dietas. Para KLEIN (2009) a qualidade do vapor é fundamental para se obter peletes de qualidade. O vapor ideal é o saturado, encontrado numa faixa estreita de temperatura, próxima de 100°C. É importante ressaltar que altas temperaturas são acompanhadas de umidade elevada devido à adição de vapor. A pressão de vapor também pode variar de acordo com o tipo de dieta. Segundo KERSTEN et al. (2005) a pressão de vapor empregada em dietas para aves deve ser entre 1,0 e 1,5 bar.

Os parâmetros do condicionamento são muito variáveis, porém é importante saber com precisão quais são o tempo, temperatura e umidade ideais para cada tipo de ração para a obtenção dos melhores resultados possíveis. Realizar estudos avaliando parâmetros do condicionamento é complexo devido aos múltiplos fatores envolvidos como diferentes formulações e equipamentos, por exemplo.

## Implicações

A peletização de rações é uma alternativa para modificar a forma física da dieta e melhorar a utilização dos ingredientes. Porém, muitos fatores estão envolvidos no processo, portanto conhecê-los e correlacioná-los é de fundamental importância para o aproveitamento dos benefícios.

## Referências

ABDOLLAHI, M.R.; RAVINDRAN, V.; WESTER, T.J.; RAVINDRAN, G.; THOMAS, D.V. Influence of conditioning temperature on performance, apparent metabolisable energy, ileal digestibility of starch and nitrogen and the quality of pellets, in broiler starters fed-maize and sorghum-based diets. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.162, p.106–115, 2010.

ABDOLLAHI, M.R.; RAVINDRAN, V.; WESTER, T.J.; RAVINDRAN, G.; THOMAS, D.V. Influence of feed form and conditioning temperature on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of starch and nitrogen in broiler starters fed wheat-based diet. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.168, p.88–99, 2011.

AMERAH, A.M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R.G. Feed particle size: Implications on the digestion and performance in poultry. **Worlds Poultry Science.** v.63, p.439–451, 2007.

BEHNKE, K. Factors affecting pellet quality. In: Maryland Nutrition Conference, College of Agriculture, **Proceedings...** University of Maryland. p.44-54, 1994.

BELLAVER, C.; NONES, K. A importância da granulometria, da mistura e da peletização da ração avícola. In: **IV Simpósio Goiano de Avicultura.** Goiânia- GO, 2000.

BRIGGS, J.L.; MAIER, D.E.; WATKINS, B.A.; BEHNKE, K.C. Effect of ingredients and processing parameters on pellet quality. **Poultry Science,** v.78, p.1464-1471, 1999.

CORZO, A.; MEJIA, L.; LOAR, I.I.R.E. Effect of pellet quality on various broiler production parameters. **J. Appl. Poult.** v.20, p.68–74, 2011.

DAHLKE, F. Tamanho da partícula do milho e forma física da ração para frangos de corte e seus efeitos sobre o desempenho, dinâmica intestinal e rendimento de carcaça. 2000. 98f. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

DOZIER, W.A. Pelet de calidad para obtener carne de ave más economica. **Alim. Balanc. Anim.** v.8, p.16-19, 2001.

ESMINGER, M.E. **Processing effects.** In: Feed Manufacturing Technology III. 307 AFIA. 1985. Cap.66. p.529-533.

FALK, D. **Pelleting cost centre.** In: McElhiney, R.R. (Ed.), **Feed Manufacturing Technology III.** American Feed Manufacturers Association, Arlington, p. 167-190, 1985.

FREITAS, E.R.; SAKOMURA, N.K.; DAHLKE, F.; SANTOS, F.R.; BARBOSA, N.A.A. Desempenho, eficiência de utilização dos nutrientes e estrutura do trato digestório de pintos de corte alimentados na fase pré-inicial com rações de diferentes formas físicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.73-78, 2008.

HANCOCK, J.D. Extrusion cooking of dietary ingredients for animal feeding. Contribution No. 92-316A. Kansas Agriculture Expansion Station. Proceeding of Distillers Feed Conference. **Proceesings...** Cincinnati. Ohio. v.47, p.33, 1992.

JENSEN, L.S.; MERRILL, L.H.; REDDY, C.V.; MCGINNIS, J.; Observations on eating patterns and rate of food passage of birds fed pelleted and unpelleted diets. **Poultry Science**. v.41, p.1414–1419, 1962.

KENNY, M. Broilers perform well on pellet rations. **World Poult Sci.** v.24, p.18–19, 2008.

KERSTEN, J.; ROHDE, H.; NEF, E. Principles of Mixed Feed Production – Components. Processes. Technology, 2005.

KLEIN, A.A. Peletização de Rações: Aspectos Técnicos, Custos e Benefícios e Inovações Tecnológicas. Boletim técnico. Disponível em: <[http://pt.engormix.com/MA-balanceados/fabricacao/artigos/peletizacao-racoes-aspectos-tecnicos\\_159.htm](http://pt.engormix.com/MA-balanceados/fabricacao/artigos/peletizacao-racoes-aspectos-tecnicos_159.htm)> Acesso em 20 jan. 2013.

KLEIN, C.H. Efeito da forma física e do nível de energia da ração sobre o desempenho, a composição de carcaça e a eficiência de utilização da energia metabolizável consumida por frangos de corte. 1996. 97f. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

LARA, M.A.M. Processo de produção de ração – moagem, mistura e peletização. Boletim técnico, 2010. Disponível em: <<http://nftalliance.com.br/processo-de-produ-o-de-ra-o-moagem-mistura-e-peletiza-o/>> Acesso em 15 jan. 2013.

LECZNIESKI, J.L.; RIBEIRO, A.M.L.; KESSLER, A.M.; PENZ JR, A.M. Influência da forma física e do nível de energia da ração no desempenho e na composição de frangos de corte. **Arch. Latinoam. Prod. Anim.** v.9, p. 6-11, 2001.

LÓPEZ, C.A.A.; BAIÃO, N.C.; LARA, L.J.C.; RODRIGUEZ, N.M.; CANÇADO, S.V. Efeitos da forma física da ração sobre a digestibilidade dos nutrientes e desempenho de frangos de corte. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, p.1006-1013, 2007.

MAIORKA, A. Efeito da forma física, nível de energia em dietas formuladas com base em aminoácidos totais e digestíveis no desempenho e composição de carcaças de frangos de corte, machos, dos 21 aos 42 dias de idade. 1998. 115f. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MCKINNEY, L.J.; TEETER, R.G. Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: I. pellet quality and II. prediction of consequential formulation dead zones. **Poultry Science**, v.83, p.1165-1174, 2004.

MEINERZ, C.; RIBEIRO, A.M.L.; PENZ Jr., A.M.; KESSLER, A.M. Níveis de energia e peletização no desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte com oferta alimentar equalizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.2026-2032, 2001.

MORITZ, J.S.; WILSON, K.J.; CRAMER, K.R.; BEYER, R.S.; MCKINNEY, L.J.; CAVALCANTI, B.; MO, X. Effect of formulation density, moisture, and surfactant on feed manufacturing, pellet quality, and broiler performance. **J. Appl. Poult. Res.** v.11, p.155–163, 2002.

NIR, I.; PTICHI, I. Feed particle size and hardness: Influence on performance, nutritional, behavioural and metabolic aspects. In: World feed conference, 1., 2001, Utrecht, the Netherlands. **Proceedings...** Wageningen, the Netherlands: Wageningen Press. p.157-186, , 2001.

NIR, I.; HILLEL, R.; PTICHI, I.; SHEFET, G. Effect of particle size on performance. Grinding Pelleting interactions. **Poultry Science**. v.7, p.771-783, 1995.

NUNES, A.G.; FARIA, A.P.S.; STEINMACHER, F.R.; VIEIRA, J.T.C. Processos enzimáticos e biológicos na panificação. Florianópolis. Universidade Federal De Santa Catarina –UFSC, 2006.

PROUDFOOT, F.G.; SEFTON, A.E. Feed texture and light treatment effects on the performance of chicken broilers. **Poultry Science**. v.57, p.408–416, 1978.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 184p, 2007.

SKOCH, E.R.; BEHNKE, K.C.; DEYOE, C.W.; BINDER, S.F. The effect of steam-conditioning rate on the pelleting process. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.6, p.83–90, 1981.

SCOTT, T.A.; SWIFT, M.L.; BEDFORD, M.R. The influence of feed milling, enzyme supplementation, and nutrient regimen on broiler chick performance. **J. Appl. Poult. Res.**, v.6, p.391-398, 1997.

SILVERSIDES, F.G.; BEDFORD, M.R. Effect of pelleting temperature on the recovery and efficacy of a xylanase enzyme in wheat-based diets. **Poultry Science**. v.78, p.1184–1190, 1999.

SOEST, J.J.G.; HULLEMAN, S.H.D.; WIT, D.; Vliegenthart, J.F.G. Crystallinity in starch bioplastics. **Industrial Crops and Products**, v.5, p.11, 1996.

SVIHUS, B.; KLØVSTAD, K.H.; PEREZ, V.; ZIMONJA, O.; SAHLSTRÖM, S.; SCHÜLLER, R.B.; JEKSRUD, W.K.; PRESTLØKKEN, E. Nutritional effects of pelleting of broiler chicken diets made from wheat ground to different coarsenesses by the use of roller mill and hammer mill. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.117, p.281–293, 2004.

VARGAS, G.D.; BRUM, P.A.R.; FIALHO, F.B.; BORDIN, R.A.; DIONELLO, N.J.L.; RUTZ, F. Efeito do nível de trigo na dieta e do percentual de grãos germinados sobre a qualidade dos pellets e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Rev. Bras. de Agrociência**, v.7, p.159-161, 2001.

THEURER, C.B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.63, p.1649-1662, 1986.

THOMAS, M.; VAN DER POEL, A.F.B. Physical quality of pellet animal feed. 1. Criteria for pellet quality. In: Physical quality of pellet animal feed: a feed model study, Wageningen. **Proceedings...** Wageningen Agricultural University, p.19-46, 1996.

ZELENKA, J. Effect of pelleting on digestibility and metabolizable energy of poultry diets. In: European symposium on poultry nutrition, Lillehammer. **Proceedings...** Lillehammer: World's Poultry Science Association, p.127-128, 2003.

## **ALTERNATIVAS NA REDUÇÃO DOS CUSTOS DE PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

**lessar Salah**

Em um cenário de crise internacional, redução do estoque mundial de grãos e aumento de custos de matérias-primas, muitas empresas tem lutado mais para garantir a sobrevivência, do que propriamente para melhorar a rentabilidade.

Segundo Glauber, economista chefe do USDA, 2013 devido a seca no continente Americano, o estoque mundial de grãos safra 2012/2013 foi o menor dos últimos 40 anos (desde 1973/1974) atingindo preços recordes, sendo que a exportação Brasileira de milho pode ultrapassar a Americana, algo sem precedentes. As previsões para o futuro em custos de grãos são boas, porém como necessitamos da safrinha brasileira e da produção Americana, dependentes do clima (que não foi favorável o ano passado), é difícil garantir os preços de grãos para 2013/2014, antes da metade do ano.

Frente a este cenário, o custo de produção do frango vivo em nosso país, passou de U\$ 0,36/kg em 2001 (world Poultry, 2001) para U\$ 1,12/kg em dezembro de 2012 (EMBRAPA - galpão climatizado/ PR, 2013). Um aumento em dólar de três vezes. Comparando Brasil e EUA, o custo de produção do frango eviscerado a nível de abatedouro em 2012, foi de U\$ 1,55 e U\$ 1,70, respectivamente (Paul Aho, 2012). Este alto custo de produção, muitas vezes não pode ser repassado aos clientes gerando uma perda financeira em várias empresas, que foram obrigadas a usar todos os conceitos na redução de custo de carne produzida. Muitas não sobreviveram à crise.

Analizando a produção de frangos Americana de 2010 até o final de 2013 (previsão), realizada pelo USDA em fevereiro deste ano, o aumento de custos não se refletiu no aumento de preços no mercado, porém há uma forte correlação negativa entre preços e produção, ou seja, quanto maior o volume produzido pior o preço. O ano de 2011, por exemplo, teve o maior volume de produção (16,9



milhões de toneladas) de carne de frango e foi o pior ano desta série com relação a preços de mercado (US\$ 1,74 /kg). Já o ano de 2012 houve uma redução de produção de aproximadamente 119.000 tons, e uma melhoria de quase 10% de preços do mercado. Igualmente 2013 a previsão é de redução da produção para 16,7 milhões de toneladas de carne de frango e melhoria de preços de mercado esperada, com média prevista de US\$ 2,02/kg. Este exemplo é importante para refletirmos o que também ocorre em nosso país: Buscamos volume de produção ou rentabilidade?

## EUA: VOLUME DE PRODUÇÃO X PREÇOS DE MERCADO :



Para redução do custo de produção, temos de saber se estamos realmente utilizando os indicadores gerenciais corretos e para isto façamos um exercício de reflexão com algumas perguntas:

1. A empresa trabalha para melhorar o resultado produtivo (IEE, CA, CA calórica) ou para melhorar o custo de seus produtos finais (custo do frango vivo, custo da carcaça ou de carne de peito)?
2. Os indicadores objetivo da empresa são os que se traduzem em maior rentabilidade?
3. Dos fatores que afetam diretamente o custo, o que falta aplicar em nossa empresa? Como aplicar?

4. Sobre linhagem, temos a linhagem mais eficiente em custos ou em fatores produtivos? Estamos avaliando o "pacote genético" de toda a cadeia até o abatedouro? Dentro da mesma linhagem que fatores estão limitando o desempenho genético e como controlar?

A linhagem está sendo alojada separada por sexos para cumprir exigências de mercado (griller/cortes) ou maximar o ganho genético por sexo? Se o alojamento é de mistos qual a melhor linhagem? Se estamos sexando porque não trabalhar com ração separada macho/fêmea?

5. No Brasil sabemos que um dos limitantes produtivos mais comuns é o estresse por calor. Como trabalhar para reduzir seus efeitos e quais as reais perdas ocasionadas pelo EPC?
6. Qual é o peso de frango vivo e de abate que atende aos clientes e é mais rentável ("Idade de abate com melhor Eficiência econômica") dependendo do objetivo de produção?
7. Que podemos trabalhar em nosso incubatório e primeiros sete dias de vida para obter a maior rentabilidade?
8. Existem áreas entre departamentos que não estão sendo trabalhadas ("terra de ninguém")? Exemplo: quem é o responsável pelo peleite da prensa ao bico da ave? Do frango vivo granja até o abate e cortes?
9. A nutrição tem o objetivo de parâmetros produtivos ou de custo? O custo é avaliado até carcaça de uma maneira estatística? As diferentes áreas de produção da empresa se reúnem para buscar a melhor eficiência em custos dos produtos finais?
10. Qual o custo de produção atual do produtor brasileiro e americano e nossas estratégias para reduzir o custo de produção?

O objetivo deste trabalho é refletir sobre nossas dificuldades e oportunidades de redução de custo, muitas vezes já bem descritas em literatura, mas talvez ainda não aplicadas em sua totalidade à nível de campo. Caso os colegas tenham oportunidade de utilizar somente um dos conceitos discutidos, a meta será atingida.

Começamos nossa reflexão, com uma comparação de custos do integrado americano e brasileiro, realizada respectivamente por Cunningham e Fairchild (Análises de custos e retorno dos sistemas de produção da Geórgia EUA, para os anos 2011-2012) e EMBRAPA (média do Brasil em 2012 para galpões climatizados no Paraná):

XIV Simpósio Brasil Sul de Avicultura e V Brasil Sul Poultry Fair  
09 a 11 de abril de 2013 - Chapecó, SC - Brasil  
Palestras

COMPARATIVO BRASIL - EUA PRODUTOR INTEGRADO	Custo /kg de frango vivo			Custo/ton.
	BRASIL R\$	Brasil U\$	EUA U\$	DIF./Ton.
1.Custo Variável (A)	0,0937	0,0469	0,0458	1,1633
1.3. - Calefusão	0,0131	0,0066	0,0170	-10,4000
1.4 - Cama	0,0178	0,0089	0,0039	4,9700
1.5 - Energia Elétrica	0,0172	0,0086	0,0090	-0,4300
1.6 - Funrural	0,0039	0,0019		1,9458
1.7 - Licença ambiental	0,0001	0,0001		0,0500
1.8 - Manutenção	0,0069	0,0034	0,0053	-1,8500
1.9 - Mão de Obra	0,0290	0,0145		14,5000
1.10 - Outros	-		0,0070	-6,9900
1.14 - Seguro	0,0025	0,0012		1,2375
1.17 - Despesas Financeiras (Sobre capital de giro)	0,0006	0,0003		0,3000
1.18 - Eventuais	0,0027	0,0014	0,0036	-2,1700
				-
2. Custo Fixo (B)	0,0613	0,0307	0,0634	-32,7000
2.1 - depreciação	0,0408	0,0204	0,0232	-2,8000
2.2 - Remuneração sobre capital Medio	0,0205	0,0103	0,0146	-4,3000
Taxas federais, estaduais e seg. social calc. a 35%.			0,0256	-25,6000
Total	0,1550	0,0776	0,1092	-31,5367

Neste trabalho, verificamos que o custo do integrado Americano é cerca de 31 reais superior ao brasileiro/ton. de frango vivo produzido. O valor pago ao integrado estadunidense seria de U\$ 0,1236/ kg de frango vivo ou ainda cerca R\$ 0,70 para um frango de 2,85 kg (cambio 2:1).

Uma oportunidade, comparando as duas aviculturas, seria a redução do nossos custos de cama, com a reutilização desta por três anos ou mais, desde que não haja evento sanitário no lote e os galpões permaneçam com bons resultados produtivos. Roll et al, 2011 trabalhando com 8.877 amostras de cama, demonstraram que houve uma redução significativa no número de isolamentos de Salmonella, com o reuso de cama por 14 lotes seguidos. Os autores citam ainda, que além da redução de Salmonella e do custo de cama, melhoraria a sustentabilidade ambiental.

Outro tema é a escolha da genética, que faz parte inicial do planejamento estratégico da companhia e é fundamental na produção do custo ideal. O passado nos ensina que nenhuma linhagem manteve a hegemonia mundial por muito tempo e que os pacotes genéticos mudam de acordo com um trabalho prévio de

seleção genética e devem ser reavaliados periodicamente, da reprodutora ao abatedouro, comparando custos do mix de produção da empresa na sua realidade.

Existe uma dificuldade de avaliação da carcaça devido à vários fatores que interferem, como idade de pintinhos, jejum pré abate, ambiente, nutrição, sexo, idade de abate, entre outros, porém é fundamental criar um sistema de avaliação estatístico de carcaça para a correta tomada de decisão.

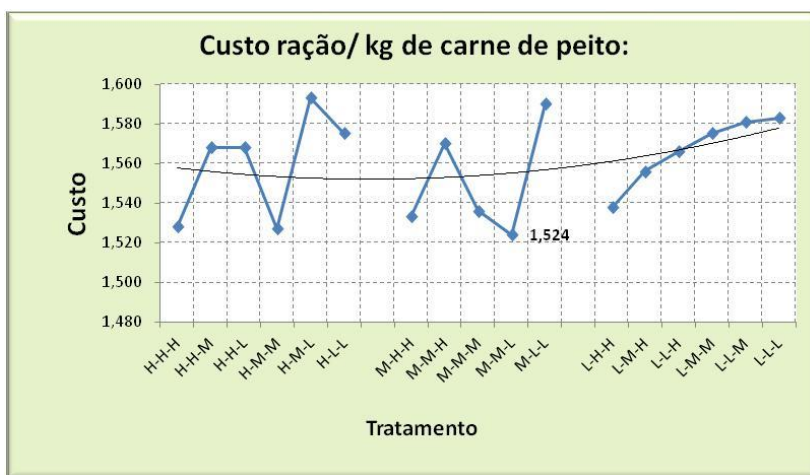
Quando avaliamos uma mesma linhagem de mercado, com empenamento rápido e lento, por exemplo, verificamos uma preferência Estadunidense pelo primeiro, enquanto o Brasil prefere o empenamento lento e a pergunta que teríamos de responder seria quem está correto e porque?

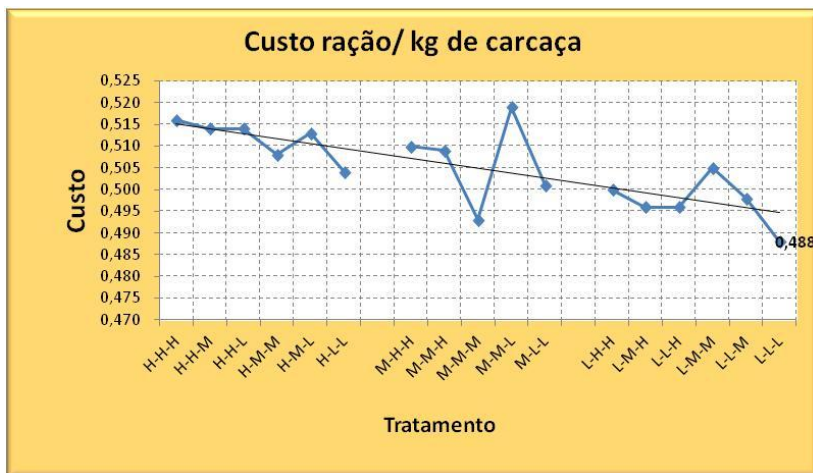
Quando não temos a necessidade de abater sexado (caso do "griller") e avaliamos os dois "pacotes genéticos" verificamos uma vantagem econômica para o empenamento rápido, que em 2012 produziu mais de 11 pintos por galinha alojada comparado com a mesma linhagem de empenamento lento, com um custo menor em 20 reais/tonelada (dados da linhagem - resultados acumulados de 2012). Como vantagem adicional, teríamos a produção de uma carcaça com melhor qualidade no nível de abatedouro, como menor nível de arranhões e celulite em um mercado cada vez mais exigente e em galpões com alta densidade, pelo aumento de uso de galpões climatizados, que como veremos em seguida, tanto a alta densidade como o uso de galpão climatizado são ambos, importantes fatores na redução dos custos de produção.

A avaliação do menor custo de ração por kg de carne produzida é o melhor indicador de custos em nutrição, porém não necessariamente acompanha os melhores resultados produtivos. O Brasil trabalha com níveis de ração de maior densidade comparados com níveis americanos de menor densidade (calórica e proteica) e piores resultados produtivos, então outra pergunta seria: que níveis nutricionais são ideais para o melhor custo/kg de frango vivo ou ainda para o melhor custo de carne à nível de abatedouro?

Corzo et al, 2010 trabalhando com três níveis de aminoácidos (alto:H - médio:M e baixo:L) para dietas iniciais, crescimento e final, com variadas combinações encontrou uma

resposta linear de peso e conversão ao incremento de aminoácidos, porém não foi o cenário de custos de alimento mais eficiente economicamente:

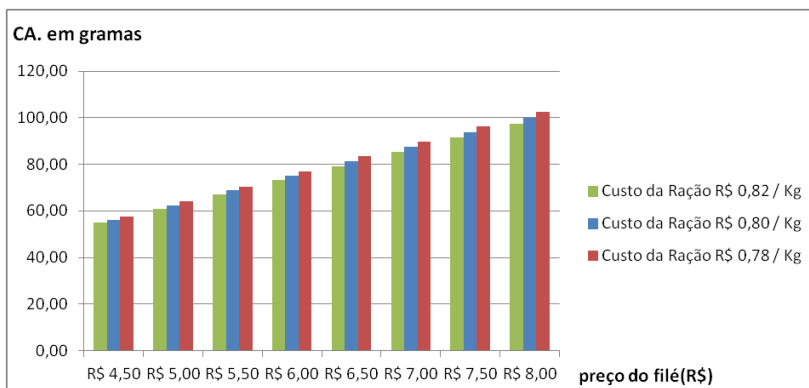




Cada empresa deve avaliar o custo de ração/kg de frango vivo, de carcaça e de carne de peito, buscando a melhor eficiência econômica de custo de ração e não o melhor resultado produtivo.

O peso de abate mais eficiente em custos, também deve ser calculado para cada empresa, desde que sejam atendidas as especificações do cliente. Com os dados atualizados de custos, quanto maior o peso médio (a partir de 2,2 kg) piora o custo do animal vivo, porém melhora o custo/tonelada produzida a nível de abatedouro, pela diluição dos custos fixos da planta e pelo aumento do rendimento com a idade. Os preços de venda também são importantes neste caso, para calcular a rentabilidade, dependendo do peso de abate.

Abaixo apresentamos um gráfico comparando a melhoria de receita gerada com aumento de rendimento de 1% de carne de peito (em relação ao peso vivo), com a economia gerada pela conversão alimentar, em função de diferentes custos de ração e preços de venda.



Neste exercício, o aumento de 1% de carne de peito, poderia ser comparado em termos de custos, a uma melhoria de 90 gramas de conversão alimentar. Em uma empresa que abate dois milhões de aves com 2,8 kg /mês, 1% de carne de peito significaria 56 toneladas a mais, com um valor médio de R\$ 7,50/kg de filé, seria o equivalente 420.000,00/mês. Neste exemplo, para empresas que trabalham hoje com uma conversão de 1,7 para um frango vivo de 2,8 kg, necessitariam produzir o mesmo animal com uma C.A. de 1,61 para gerar uma economia similar.

Como a melhoria do percentual de carcaça e de carne de peito produzidos tem uma interferência importante no custo de produção, porém o aumento do nível de aminoácidos para este fim, pode não ser o mais econômico, outra pergunta seria: que outras alternativas podemos utilizar para melhoria do rendimento de carne?

Dentre vários conceitos para melhorar o rendimento, já está bem publicado o efeito da nutrição "in ovo" e de dietas pré-iniciais, estimulando a proliferação das células satélites e aumentando o número de células musculares durante o período embrionário ou a primeira semana de vida da ave.

Vários trabalhos foram publicados com uma nutrição in ovo, como o de Halevy et al, 2009 que com esta aplicação, aumentaram em 492% o número de células satélites ao sétimo dia de vida dos pintinhos ou o exemplo de Mousavi et al, 2009 que encontraram uma melhoria estatística de peso vivo e conversão alimentar (17

pontos) em aves de 42 dias de idade, suplementadas in ovo com treonina. Se bem já existem máquinas para o uso deste conceito, ainda temos dificuldades logísticas para aplicação do produto na incubadora um dia antes da transferência. Algo que deve ser solucionado em um futuro próximo. Voltamos então nosso pensamento para o uso da dieta pré-inicial.

Vários conceitos de dieta pré-inicial foram bem discutidos e comprovados há mais de 10 anos, assim como a dificuldade de digestão do pintinho nesta fase, para uma dieta milho-soja (Batal e Parsons, 2003) e não temos a pretensão aqui de fazer uma discussão profunda sobre o tema e sim uma reflexão de que importância estamos dando à esta fase e quantos conceitos estamos realmente usando na prática:

- ✓ Uso de milho de melhor qualidade e maior densidade, separado em mesa densimétrica (fase de maior sensibilidade para micotoxicose - Mariani, 1998). O custo da mesa não é alto e o retorno é rápido.
- ✓ Reduzir o percentual de soja (< 27%) e utilizar outras matérias-primas com melhor digestibilidade. Utilizar soja com alta proteína e baixa fibra (Ideal > 48 % PB).
- ✓ Usar alto percentual de sódio (Maiorka, 2003).
- ✓ Utilizar alimento triturado com 1.500-1600 micras.
- ✓ Utilizar DGM de grãos com 800 micras.
- ✓ Uso de ácidos butíricos (Leeson, 2005).

Estamos trabalhando com estes conceitos somados na dieta pré-inicial, que é responsável por somente 5 - 6% do custo total de ração, buscando um pintinho na primeira semana com 4,5 - 5 vezes o peso inicial e obtendo um excelente custo benefício e correlação com peso final e rendimento de carne.

Uma oportunidade também é o uso de espectros de luz monocromática azul e verde (LED), que já é praticado em várias empresas pelo mundo. Os efeitos publicados por vários autores demonstram que estas cores estimularam a proliferação de células satélites, melhorando o desenvolvimento muscular, ganho de peso e o comportamento das aves, mantendo estas mais calmas. Destes trabalhos podemos destacar o de Rozemboim et al, 2004 e o de Prayitno, 1997. Ou seja, o animal está pedindo cor verde/azul e qual estamos usando?



Para redução de custos não há como não falar do efeito da peletização. Também bem comprovada por várias literaturas, sabemos que o efeito de melhoria de 187 kcal de uma ração peletizada, que encontraram McKinney e Teeter (2004) está vinculado a maior frequência de descanso e menor incidência de consumo (Zatari e Ferket, 1991). Resumindo, mesmo uma dieta peletizada só tem efeito se o pelete permanece no comedouro. Quanto maior o percentual de finos, menor o efeito.

Para melhorar este resultado, uma área de oportunidade é o pós pelete e teria algumas perguntas para reflexão: cumprimos com o uso máximo de 2% de aplicação de óleo em misturador e o restante pós pelete? Quem é o responsável por cuidar deste pelete da prensa até o bico da ave? Os caminhões são pneumáticos ou com controle de RPM na descarga? Os silos de granja estão preparados para não romper o pelete? Estamos avaliando o percentual deste nos comedouros de nossas empresas? Porque em outros países da América Latina se chega 90-92% de pelete no "bico da ave", sem comentar Europa onde o percentual é mais alto? O que está faltando para avançarmos?

Bom, se o efeito do pelete está relacionado ao consumo, até o bico do animal, não podemos nos esquecer do efeito da granulometria. Sabemos que muitas empresas quando estão fazendo ração peletizada esquecem o efeito do DGM, porém muitos trabalhos tem demonstrado este efeito mesmo em ração peletizada, como Dahlke et al (2001), que encontrou o melhor efeito bioeconômico com 1.120 micras. Pacheco et al (2011) demonstraram um efeito positivo sobre o desempenho de frangos com partículas de soja grossas contra finas.

Também o efeito da estrutura da dieta foi estudado com uso grãos inteiros de trigo na ração (usado há anos na Europa) com efeitos positivos na digestibilidade e desempenho das aves. Biggs e Parsons (2009) e Svihus et al (2010) encontraram melhoria de 5 e 17% na EMA da dieta, melhorando a estrutura desta, com 20% e 15% de trigo inteiro, respectivamente, confirmando a publicação prévia de vários trabalhos. Estamos trabalhando o DGM e a estrutura ideal em nossas dietas peletizadas, inclusive para farelo de soja?

Outro equipamento pouco utilizado em nossas fábricas de rações, em comparação com Europa é o uso do expander. Minha experiência pessoal como gerente de uma empresa, que trabalhava com expander de alta pressão e temperatura, por 11 anos em uma população superior a 1,5 bilhões de aves criadas neste período, encontraram melhorias de digestibilidade e energia metabolizável, levando a melhorias médias de sete pontos de conversão. Foram dezenas de testes repetidos e avaliados em campo, granja teste ou ainda estudos de universidade (dados não publicados).

Os limitantes seriam o custo de aquisição da máquina e outros equipamentos acessórios (exemplo seria a aplicação de enzimas pós pelete) e transtornos com mudanças na fábrica de ração, porém o retorno financeiro é em menos de um ano. Como o efeito principal do expander é na gelatinização do amido, não temos as perdas que ocorrem no pelete, quando este se rompe nos comedouros automáticos.

Outro efeito bem conhecido sobre o desempenho produtivo e sobre custo é o estresse por calor (EPC), que já tem seus efeitos calculados previamente dentro do orçamento anual das empresas. Resumindo, todos sabem que produzimos melhor e com menos custo nos meses próximos da temperatura de conforto e pior nos meses mais quentes, porém talvez este efeito negativo de temperatura seja ainda maior que pensamos:

May et al, 1998 fizeram equações de regressão que podem ser utilizadas até hoje na previsão do resultado de ganho de peso e conversão em função da temperatura e do peso do animal. Aplicando esta equação de regressão para o aumento de somente um grau de temperatura (Médio entre dia e noite sobre a zona de conforto) durante o período de criação de machos de 1,0 - 3,0 kg encontraram perdas de 64 gramas de peso e quatro pontos de conversão. A equação é prática e pode nos ajudar a prever melhor nossos resultados, calculando retornos de investimentos.

Uma forma de combater o EPC e melhorar o custo é o uso de galpões climatizados "Dark House". Bernardo Gallo em 2011, trabalhando com 144 milhões de aves, encontrou uma melhoria de 76 gramas de conversão e uma redução de 5% de custo, frente a galpões convencionais, com uma densidade de 15 aves versus 10,5, respectivamente.

A conversão alimentar em aviários escuros (Dark house) melhorou, mesmo com uma densidade 40% maior, efeito distinto ao de aviários convencionais, como o publicado pela EMBRAPA em 2004, onde para cada ave alojada a mais houve uma piora de cinco pontos de conversão.

A alta velocidade de ar é uma das responsáveis pelos excelentes resultados em galpões climatizados mesmo com alta densidade. Dozier et al (Poultry Science 2005) aumentando a velocidade de ar de dois para três metros/segundo produziu uma melhoria cumulativa de peso de 287 gramas e 10 pontos de conversão em aves de 49 dias de idade.

Os efeitos negativos de densidade em galpões climatizados evidenciados à campo estão relacionados principalmente a piora da qualidade de carcaça e a redução do ganho de peso. Dozier et al, 2005 trabalhando com aves de 1-49 dias de idade e em densidades acima de 30 kg, encontraram uma redução linear de ganho de peso de 65 gramas para cada aumento de 5 kg/m<sup>2</sup>, devido a redução no consumo de ração. Neste trabalho a C.A também não foi estatisticamente afetada. Este ganho de peso reduzido em alta densidade é frequente em nossas integrações e cito algumas sugestões para reduzir este efeito:

- ✓ Verificar o ponto econômico ideal de densidade (algumas empresas mesmo reduzindo o número de aves, aumentaram os kg produzidos/m<sup>2</sup>, reduzindo custo).
- ✓ Garantir uma velocidade de ar dentro do galpão, de três metros/segundo.
- ✓ Garantir um alto percentual de pelete no comedouro para estimular o consumo.
- ✓ Alimento expandido.
- ✓ Lembrar que incubação e primeira semana de vida (ração pré-inicial) tem forte correlação com peso final.
- ✓ Uso de programas de luz (luz verde/azul?) buscando melhoria no ganho de peso.

Também em muitas empresas uma "terra de ninguém" é a saída do frango da granja até o abate/ sala de cortes. E convindo novamente a reflexão: temos dados gerencias de período de retirada de alimento, apanha, transporte e espera por caminhão de frangos? E o tempo entre o sacrifício da ave até os cortes?

O jejum pré-abate ideal é de 8-10 horas. Cada carga de caminhão que tenha 2-3 horas a mais de jejum podem ser comparadas em custos a uma piora de cinco pontos de conversão alimentar. As perdas dentro do abatedouro na demora em realização de cortes também são expressivas.

Muitas empresas trabalham com objetivos de produção e não por objetivos de custo. Também encontramos empresas trabalham separadas por departamento e não tem indicadores objetivos comuns. Importante a equipe de produção trabalhar integrada, para não ter o risco de obter o melhor resultado produtivo por área, sem necessariamente o melhor custo e rentabilidade para empresa com a satisfação do cliente.

Abaixo uma tabela com alguns indicadores de produção e de custos:

## Exemplos de Objetivos :

### Antigos:

- PV, GMD, Viabilidade IEE, CA, C.A calórica.
- Densidade de aves/ m<sup>2</sup>.
- Rendimento de carcaça
- Rendimento de Abatedouro.
- Maior volume de abate abatedouro.
- Atender as especificações do cliente.

### Novos :

- ➡ Menor Custo de ração/ kg de carcaça e carne de peito.
- ➡ Carne e ovos prod. /m<sup>2</sup>.
- ➡ Menor custo/kg de carcaça.
- ➡ Menor custo/kg de carne prod. no abatedouro.
- ➡ Maior rentabilidade de abatedouro.
- ➡ Atender cliente, comunidade, meio-ambiente, leis e garantir a sobrevivência da empresa.

## **Bibliografia**

Aho, Paul W., Broiler economics-Aviagen, vol. 20, issue 5, October 2012.

Aho, Paul W.2012. Existing and future challenges for broiler production in North and South America. Swedish Broiler production seminar.

Batal and Parsons.2002.Effects of age on nutrient digestibility in chicks fed different diets. Poultry Science 81:400-407.

Corzo et al, 2010. Responses of COBB X COBB 500 broilers to dietary amino acid density regimens, Journal app. Poultry research 19:227-236 .

Bigot et al, 2002. Early nutrition: Effects and nutritional consequences of delayed feed intake. 11 European Poultry conf. Symposium "broiler production" Sept. Bremen.

Gallo, Bernardo B., 2009. Dark House: Manejo X desempenho frente ao sistema tradicional. Simpósio Brasil Sul de Avicultura.

Glauber, Joseph W. 2013. 89 th. agricultural Outlook forum. USDA, February 21, 2013.

Cunningham, Dan L. and Fairchild, Brian D.2011. Broiler production system in Georgia. Cost and returns analysis for 2011-2012. UGA Cooperative Extensive Bulletin 1240.

Dozier et al.2005. Stocking density effects on growth performance and processing yields of heavy broilers. Poultry Science 84:1332-1338.

EMBRAPA Suínos e Aves. 2013. Custos de produção de frango de corte 2012 completo por unidade UF.

Leeson et al. 2005. Effect of the butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. Poultry Science 84:1418-1422.

Livestock, Dairy and poultry outlook/LDP-M-223/January,1 7 2013, Economic research service, USDA.

May et al, 1998. The effect of environmental temperature and body weight on growth rate and feed: gain of male broilers. Poultry Science 77:499-501.

McKinney, L.J. and R.G. Teeter.2004. Predicting Effective Caloric Value of nonnutritive factors: I pellet quality and II. Prediction of consequential formulation of dead zones. Poultry Science 83:1165-1174.

Mousavi et al, 2009. The effects of in ovo feeding of threonine and carbohydrates on growth performance of broiler chickens. British Poultry abstracts. Vol. 5.April 39-40.

Pacheco, Wilmer J., Peter R. Ferket, John T. Brake and Charles R. Stark,2011. Particles sizes affects digestibility of soybean meal and other ingredients. Proceedings of 38 annual poultry nutritional conference. p11-25.

Prayitno,D.S., C.J.C.Phillips and H. Omed.1997. The effects of color of lighting on behavior and production of meat chickens. Poultry Science 76:452-457.

Rozemboim,I., I. Biran, Y.Chaiseha, S.Yahav, A.Rosenstrausch, D. Sklan and O.Havely. 2004. The effect of a green and blue monochromatic light combination on broiler growth and development. Poultry Science 83:842-845.

Roll, V.F.B, M.A. Dai Prá and A.P.Roll. 2011. Research on Salmonella in broiler litter reused for up to 14 consecutive flocks. Poultry Science 90:2257-2262.

# **ARTIGOS CIENTÍFICOS**





## DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE UM A SETE DIAS RECEBENDO DIETAS SUPLEMENTADAS OU NÃO COM PROBIÓTICO E OU BETAGLUCANO

<sup>1</sup>Taniara Suelen Mezalira, <sup>2</sup>Luciana Kazue Otutumi,  
<sup>3</sup>Matheus Luiz Hryniewicz Santos, <sup>3</sup>Sarah Satie  
Suenaga, <sup>4</sup>Luiz Paulo Machado, <sup>2</sup>Ranulfo Piau Junior

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de Medicina Veterinária Bolsista PIBIC- UNIPAR,  
Umuarama, Paraná,

<sup>2</sup> Professores do curso de Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência  
Animal - UNIPAR,

<sup>3</sup> Acadêmicos do curso de Medicina Veterinária e participantes do programa  
de Iniciação Científica (PIC) - UNIPAR,

<sup>4</sup> Acadêmico do curso de Medicina Veterinária - UNIPAR

**RESUMO:** O trabalho objetivou avaliar o efeito da suplementação de probiótico associado ou não ao prebiótico (betaglucano) sobre o desempenho de pintos de corte da linhagem *Cobb* no período de um a sete dias de idade. Foram alojados 240 pintainhos de corte, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições de 15 aves cada. Os tratamentos foram: T<sub>1</sub> controle, T<sub>2</sub> com probiótico e com betaglucano, T<sub>3</sub> com probiótico e sem betaglucano, T<sub>4</sub> sem probiótico e com betaglucano. O probiótico utilizado era à base de *Lactobacillus spp.* e foi administrado na dosagem de 0,006 g/dia na água de bebida durante o período de sete dias. Já o prebiótico foi adicionado na ração na dosagem de 500 g/tonelada. Foi avaliado o desempenho por meio da mensuração do peso médio (g), ganho de peso médio (g), consumo médio de ração (g) e conversão alimentar (g/g). A análise estatística dos dados foi feita por meio da análise de variância, utilizando o programa estatístico BioEstat 5.0. Não houve diferença no desempenho dos pintainhos recebendo ou não dietas contendo probiótico e ou betaglucano ( $p > 0,05$ ). As médias gerais do peso dos pintainhos, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar foram respectivamente de: 134,86, 92,82, 128,29, 1,42. Nas condições em que o trabalho foi realizado conclui-se que a

suplementação de probiótico e ou betaglucano não alteram o desempenho de pintos de corte no período de um a sete dias.

**Palavras-Chave:** aditivos, ganho de peso, conversão alimentar, consumo de ração.

## INTRODUÇÃO

Devido a grande evolução da avicultura nos últimos tempos, busca-se aditivos e suplementos alimentares que tenham efeito positivo, para que se possa estabelecer o bom desempenho sem que haja comprometimento da produção. Dentre os aditivos ressalta-se o uso de prebióticos e probióticos que servem de alimento e estimulam o crescimento de diversas bactérias intestinais não patogênicas (BANDEIRA et al., 2007). De acordo com Furlan, Macari e Luquetti (2004) o avanço na utilização de aditivos de origem microbiana, como os probióticos e prebióticos deve-se a alta restrição de antibióticos promotores de crescimento, e estes representam um grande avanço tecnológico, pois propiciam efeitos benéficos à natureza das criações industriais.

O interesse pelo uso de aditivos como probióticos na avicultura destaca-se pelo efeito benéfico sobre as taxas de crescimento e conversão alimentar. Esses efeitos devem-se pela adição desses organismos na ração, os quais contribuem para um estabelecimento e manutenção da população microbiana que competem com micro-organismos indesejáveis e patogênicos do trato gastrointestinal dos animais (LIMA et al., 2003).

Loddi et al. (2000) relata que os resultados da utilização desses aditivos depende da quantidade e características dos micro-organismos utilizados para elaborar o produto, as cepas dos micro-organismos devem produzir bons resultados, como não ser tóxicos, sobreviver as condições do trato gastrointestinal e ser antagonistas as bactérias indesejáveis.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar se a suplementação de dietas com probiótico e/ou prebiótico alteram o desempenho de frangos de corte no período de um a sete dias de idade.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Hospital Veterinário da Universidade Paranaense (Campus II), localizado no município de Umuarama, Paraná, Brasil. Foram alojados 240 pintainhos de corte da linhagem *Cobb* com um dia de idade, proveniente de um incubatório localizado na região noroeste do estado durante o período de um a sete dias de idade. Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizados com quatro tratamentos e quatro repetições com 15 aves em cada unidade experimental. Foram avaliados quatro tratamentos: T<sub>1</sub> controle sem adição de probiótico ou betaglucano, T<sub>2</sub> tratamento teste com probiótico e com betaglucano, T<sub>3</sub> com probiótico e sem betaglucano, T<sub>4</sub> tratamento sem probiótico com betaglucano. O probiótico utilizado era à base de *Lactobacillus spp.* e foi administrado na dosagem de 0,006 g/dia na água de bebida durante o período de sete dias. Já o prebiótico foi adicionado na ração na dosagem de 500 g/tonelada durante o mesmo período (1 a 7 dias de idade). O desempenho foi avaliado por meio da mensuração do peso vivo médio (g), ganho de peso médio (g), consumo médio de ração (g) e conversão alimentar (g/g). Os resultados do desempenho foram submetidos à análise de variância ao nível de 5% de significância utilizando-se o programa estatístico BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença no desempenho dos frangos de corte recebendo ou não dieta com suplementação ou não de probiótico e ou betaglucano (Tabela 1).

**Tabela 1.** Média  $\pm$  erro padrão do peso médio (g), ganho médio de peso (g), consumo médio de ração (g) e conversão alimentar (g/g) de frangos de corte no período de 1 a 7 dias de idade recebendo dietas contendo ou não prebiótico e/ou probiótico

Tratamentos	Peso Médio (g)	Ganho médio de peso (g)	Consumo médio de ração (g)	Conversão alimentar (g/g)
Tratamento 1	132,45 $\pm$ 5,78	91,19 $\pm$ 5,44	106,44 $\pm$ 15,59	1,30 $\pm$ 0,03
Tratamento 2	137,34 $\pm$ 3,53	94,73 $\pm$ 3,75	131,33 $\pm$ 14,33	1,38 $\pm$ 0,10
Tratamento 3	133,33 $\pm$ 2,24	91,71 $\pm$ 2,38	136,67 $\pm$ 7,37	1,49 $\pm$ 0,06
Tratamento 4	136,33 $\pm$ 3,14	93,72 $\pm$ 3,26	133,99 $\pm$ 7,60	1,44 $\pm$ 0,10
Valor de P	0,7614	0,8958	0,2626	0,5936

T<sub>1</sub> controle sem adição de probiótico ou betaglucano, T<sub>2</sub> tratamento teste com probiótico e com betaglucano, T<sub>3</sub> com probiótico e sem betaglucano, T<sub>4</sub> tratamento sem probiótico com betaglucano.

Zuanon et al. (1998) avaliaram o uso de probiótico a base de *Bacillus toyoi* em dietas de frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade e também não encontraram diferenças significativas nos resultados de consumo de ração, peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar.

Fuller (1986) relata que o agente estressor deve estar presente antes que qualquer efeito do suplemento probiótico possa ser observado e que só haverá estímulo ao crescimento se o agente depressor estiver presente, ou seja, o autor enfatiza que para a evidência de melhorias no desempenho dos animais, o ambiente de criação não deve ser livre de desafio. Em condições experimentais, a ausência de resultados benéficos pode ser justificada por essa afirmação.

Mendes et al. (2010) avaliando a suplementação de betaglucano em dietas de leitões no período de 21 a 60 dias de idade, não encontrou resultados significativos no ganho de peso diário, consumo de ração e conversão, e relata que isso ocorreu em

razão do curto período no qual os animais foram submetidos aos tratamentos. Esse resultado pode justificar os resultados também encontrados no presente trabalho.

Segundo Spring (2000) o uso de prebióticos influi positivamente no desempenho pela melhora na digestão, absorção e retenção dos nutrientes da dieta, no entanto, no presente trabalho não foi possível verificar melhoras no desempenho dos animais.

Conclui-se que o uso de probiótico associado ou não ao prebiótico não altera o desempenho de frangos de corte no período de um a sete dias de idade.

## REFERÊNCIAS

- AYRES, M. et al. **BioEstat: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém: Universidade Federal do Pará, 2007, 364p.
- BANDEIRA, C. M. et al. Saúde intestinal de leitões: um conceito novo e abrangente. **Cad. Veterinária Zootecnia.**, v. 54, p. 1-97, 2007.
- FULLER, R. Probiotics. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 60, n.1, p.1-6, 1986.
- FURLAN, R. L., MACARI, M., LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉC. DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, Balneário Camboriú: ACAV, 2004.
- LIMA, A. C. F. et al. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, 2003.
- LODDI, M.M. et al. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1124-1131, 2000.
- MENDES, C. B. S. et al. Suplementação de betaglucano a dietas de leitões de 21 a 60 dias de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.62, n.3, p.696-705, 2010.

ZUANON, J. A. S. et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo antibiótico e probiótico adicionados isoladamente, associados e em uso Seqüencial. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.27, n.5, p.994-998, 1998.

SPRING, P. The effect of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentration of enteric bacteria in ceca of *Salmonella* – challenged broiler chicks. **Poult. Sci.**, v.79, p.205-211, 2000.

## **PERFIL BIOQUÍMICO DE AMOSTRAS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE DIFERENTES MATERIAIS DE ORIGEM AVÍCOLA E SUA RELAÇÃO COM A PATOGENICIDADE**

<sup>1,2</sup> Flávia Bornancini Borges Fortes, <sup>2</sup>Carlos Tadeu Pippi  
Salle, <sup>2</sup>Caroline Carniel Hiller, <sup>2</sup>Daniela Pinheiro de  
Barros, <sup>2</sup>Diana Bertani Giotto<sup>2</sup>, <sup>2</sup>Juliana Herpich

<sup>1</sup> Secretaria de Agricultura, Pecuária e Agronegócio do Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul-CDPA/UFRGS

**RESUMO:** A *Escherichia coli* é um microorganismo pertencente à flora bacteriana entérica de animais e seres humanos, estando amplamente disseminada na natureza. A colonização intestinal ocorre logo após o nascimento, sendo que 10 a 20% das *E. coli* podem ser potencialmente patogênicas para as aves. Este agente provoca perdas relevantes na indústria avícola, pois é responsável por causar as colibaciloses, caracterizadas por infecções localizadas ou sistêmicas, causadas por amostras patogênicas de *E. coli*. Como exemplos, podem-se citar os problemas respiratórios, como aerosaculite e pneumonias, além de peritonite e onfalite, entre outros. O objetivo deste trabalho foi verificar o perfil bioquímico de 261 amostras de *E. coli*, obtidas a partir de diferentes materiais de origem aviária, coletados no Rio Grande do Sul. A partir dos resultados obtidos foi feita uma associação dos mesmos com os Índices de Patogenicidade (IP) das amostras, a fim de verificar a possibilidade de relacioná-los. Foram realizadas 21 provas bioquímicas, sendo dez variáveis para *E. coli*, além do teste de hemólise. Dentre os testes variáveis, a melibiose, o sorbitol e a ramnose foram considerados positivos para as bactérias analisadas, pois mais de 90% das amostras fermentaram estes carboidratos. A salicina, a sacarose, a rafinose, o adonitol e o dulcitol, bem como a arginina e a ornitina continuaram apresentando-se como testes variáveis para *E. coli*. Os demais testes tiveram resultados positivos ou negativos de acordo com o esperado para a bactéria em questão. Em relação aos IP's, constatou-se que as amostras positivas para

arginina, dulcitol, rafinose e sacarose eram mais patogênicas que as negativas. Já as amostras negativas para a fermentação de salicina e para o teste de indol apresentaram IP's mais altos que as positivas. Concluiu-se que foi possível relacionar o perfil bioquímico das amostras de *E. coli* com a patogenicidade das mesmas.

**Palavras-Chave:** Avicultura; bioquimismo; colibacilose.

## INTRODUÇÃO

A indústria avícola brasileira é destaque no mercado mundial, pois é a maior exportadora de carne de frango do mundo e terceira maior produtora, tendo, no ano de 2012, produzido 12,645 milhões de toneladas de carne de frango, segundo dados divulgados no relatório anual da UBABEF. Ao observar a magnitude da avicultura no Brasil, constata-se a relevância do desenvolvimento de estudos que forneçam informações que agreguem melhorias para a sanidade animal, para que se ofereçam produtos de qualidade, procurando manter a competitividade brasileira dentro de um mercado tão exigente, que atualmente utiliza tanto as barreiras tarifárias como as barreiras sanitárias como limitações comerciais. Dentre os problemas sanitários mais frequentes na indústria avícola, trazendo grandes prejuízos econômicos, estão as colibaciloses, que, numa de suas manifestações, provocam lesões cutâneas, como a celulite, levando as carcaças ao descarte. De acordo com Salle e Silva (2000), pode-se dizer que as enfermidades que provocam perdas econômicas em criações de aves de produção são classificadas em cinco grupos, sendo que a *Escherichia coli* se destaca no grupo das doenças bacterianas de maior impacto, juntamente com as salmoneloses. A celulite aviária é uma causa comum de descarte parcial ou total de carcaças de frango, tendo como agente etiológico principal a *E. coli*, apesar de também já terem sido isolados outros microrganismos, como *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter agglomerans*, entre outros (MACKLIN et al., 2000; PEIGHAMBARI et al., 1995).



A *E. coli* está amplamente disseminada na natureza, fazendo parte da flora bacteriana entérica de animais e seres humanos (MORENG & AVENS, 1990). A colonização intestinal ocorre logo após o nascimento, e no trato digestivo de aves este microrganismo pode ser encontrado na concentração de  $10^6$  unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de fezes, sendo 10-20% destas amostras patogênicas para os animais. Aves silvestres e roedores também são disseminadores da *E. coli* (FERREIRA & KÖBIL, 2000). Esta bactéria pode permanecer no ambiente por longos períodos, especialmente em locais secos. Fezes de roedores, ração e água contaminada podem conter coliformes patogênicos, servindo como fontes de propagação do agente nas criações comerciais de aves (BARNES *et al.*, 1997). La Ragione & Woodward (2002) comentam que tanto em aves domésticas, quanto em silvestres podem-se encontrar amostras de *E. coli* patogênicas para aves presentes nas superfícies mucosas e na microbiota normal do trato intestinal. Além disso, sorotipos patogênicos podem ser isolados juntamente com os não-patogênicos no ambiente onde as aves são criadas. A presença de fatores de virulência confere maior patogenicidade ao microrganismo, pois facilita a invasão e permanência dentro do hospedeiro. Os principais fatores de virulência da *E. coli* são: antígenos de superfície K, que conferem resistência às bactérias perante a ação dos neutrófilos e do soro normal; produção de *pili*, que torna o microrganismo capaz de se fixar a vários tecidos do hospedeiro; produção de colicinas, que são substâncias capazes de inibir o crescimento de outras bactérias presentes no mesmo nicho onde as *E. coli* se encontram; síntese de hemolisinas e sideróforos, compostos capazes de obter ferro do organismo, possibilitando que a bactéria se multiplique nos fluidos orgânicos; produção de citotoxinas, também chamadas de verotoxinas, que são proteínas citotóxicas produzidas por alguns sorotipos de *E. coli* (ASSIS & SANTOS, 2005). Ao estudar a patogenicidade *in vitro* e *in vivo* de amostras de *E. coli*, Raji *et al.* (2003) observaram a correlação entre a fermentação de açúcares, hidrólise de esculina, teste de vermelho Congo, hemólise, motilidade, sorotipo e patogenicidade em pintos de um dia. Foram utilizadas 24 amostras diferentes de *E. coli*, e ao analisar os resultados, os autores observaram que houve diferenças no perfil bioquímico das amostras testadas, bem como no teste de patogenicidade *in vivo* em pintos de um dia.

O objetivo deste trabalho foi verificar o perfil bioquímico de 261 amostras de *E. coli*, obtidas a partir de diferentes materiais de origem aviária, coletados no Rio Grande do Sul. A partir dos resultados obtidos foi feita uma associação dos mesmos com os Índices de Patogenicidade (IP) das amostras, a fim de verificar a possibilidade de relacioná-los.

## MATERIAL E MÉTODOS

As 261 amostras de *Escherichia coli* analisadas no presente estudo são provenientes de quadros respiratórios (20%), lesões de celulite (52%) e camas aviárias (26%), sendo que deste total, quatro amostras (2%) estão sem as informações sobre sua origem. A parte experimental desta pesquisa foi realizada integralmente nas instalações do Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA-UFRGS), localizado em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. A Tabela 1 demonstra o comportamento esperado da *E. coli* para os testes realizados neste estudo.

**Tabela 1.** Perfil bioquímico esperado para as amostras de *E. coli* em relação aos testes realizados neste experimento

Testes	<i>E. coli</i>
Hemólise	Variável
Citrato de Simmon's	Negativo
Fenilalanina Deaminase	Negativo
Produção de Indol	Positivo
Produção de Gás Sulfídrico (H <sub>2</sub> S)	Negativo
Motilidade	Variável
Adonitol	Variável
Arginina	Variável
Lisina	Positivo
Ornitina	Variável
D-manose	Positivo
Dulcitol	Variável
Glicose	Positivo
Lactose	Positivo

Testes	<i>E. coli</i>
Manitol	Positivo
Melibiose	Variável
Rafinose	Variável
Ramnose	Variável
Sacarose	Variável
Salicina	Variável
Sorbitol	Variável
Urease	Negativo

A preparação dos inóculos se deu da seguinte forma: as colônias bacterianas foram colocadas em tubos contendo solução salina estéril a 0,85%, a fim de que a carga bacteriana neles contida atingisse um grau de turbidez semelhante a 0,5 na escala de MacFarland. Após o preparo desta solução, realizou-se a inoculação de 50 µL de cada amostra nos testes bioquímicos líquidos. Para verificar a presença hemólise, as amostras foram estriadas em ágar sangue, e para os testes de citrato de Simmon's, deaminação da fenilalanina e pesquisa para motilidade, produção de H<sub>2</sub>S e Indol, utilizou-se uma agulha bacteriológica para sua inoculação. A seguir, as placas e os tubos eram colocados em estufas a 37°C, por 24 a 48 horas, sendo que os testes de descarboxilação de aminoácidos permaneciam por até 96 horas na estufa, sendo observados diariamente. Após o término desta etapa, os resultados das provas bioquímicas, positivas ou negativas, foram relacionados com os Índices de Patogenicidade das amostras, obtidos por Souza (2006), que desenvolveu uma metodologia para calcular os Índices de Patogenicidade (IP) de amostras de *E. coli* de origem aviária, levando em consideração não só a capacidade dos microrganismos em causar morte em pintos de um dia, mas também o tempo de morte e a capacidade de causar lesões compatíveis com septicemia.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após a realização das provas bioquímicas encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2.** Perfil bioquímico das 261 amostras de *E. coli* provenientes de diferentes materiais de origem avícola

Testes	Resultados	
	Positivos	Negativos
Hemólise	18,01%	81,99%
Citrato de Simmon's	0%	100%
Fenilalanina	0%	100%
Produção de Indol	91,57%	8,43%
Produção de Gás Sulfídrico (H <sub>2</sub> S)	0,38%	99,62%
Motilidade	47,51%	52,49%
Arginina	26,44%	73,56%
Lisina	98,85%	1,15%
Ornitina	77,01%	22,99%
Adonitol	22,61%	77,39%
D-manose	100%	0%
Dulcitol	77,39%	22,61%
Glicose	100%	0%
Lactose	100%	0%
Manitol	100%	0%
Melibiose	100%	0%
Rafinose	83,91%	16,09%
Ramnose	97,32%	2,68%
Sacarose	72,03%	27,97%
Salicina	48,66%	51,34%
Sorbitol	99,23%	0,77%
Urease	0%	100%

A partir destes resultados foi feita a correlação dos mesmos com os Índices de Patogenicidade das amostras, donde se concluiu que, dentre os testes variáveis para *E. coli* realizados neste experimento, as amostras positivas para arginina, dulcitol, rafinose e sacarose foram mais patogênicas que as demais. Por outro lado, as amostras negativas para indol e salicina também se encontraram entre as mais patogênicas. Estes resultados discordam de Raji *et al.* (2003), que afirmaram não ser possível relacionar a atividade metabólica de diferentes amostras de *E. coli*, pois todas fermentaram carboidratos de forma similar, exceto o adonitol, onde a maioria fermentadora foi de sorotipos não-patogênicos. Rosenberger *et al.* (1985) também constataram que a atividade metabólica foi semelhante em diferentes isolados, não sendo possível associá-la com a patogenicidade, entretanto, verificaram que as amostras positivas para o adonitol foram, em sua maioria, altamente patogênicas. Em contrapartida, Montgomery *et al.* (2005) comentam que foi possível correlacionar a origem das amostras de *E. coli* e seu perfil bioquímico com a letalidade em ovos de galinha embrionados.

## REFERÊNCIAS

- ASSIS, A. C. B. & SANTOS, B. M. 2005. Patogenicidade *In Vivo* e *In Vitro* de amostras de *Escherichia coli* de origem aviária. Revista Brasileira de Ciência Avícola. v. 3, n.2. Disponível em < <http://www.scielo.com.br> >. Acesso em: 7 de jul. de 2006.
- BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J-P; GROSS, W. B. Colibacillosis. In: CALNEK, B. D. Disease of Poultry. 10th Ed. Ames: University Press, 1997. p. 631-644. 1231p.
- FERREIRA, A. J. P. & KÖBIL, T. Colibacilose aviária. In: BERCHIERI JUNIOR, A. & MACARI, M. Doenças das Aves. 1ª Ed. Campinas: FACTA, 2000. p. 197-207.
- LA RAGIONE, R. M. & WOODWARD, M. J. Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia. Research in Veterinary Science. v. 73, n. 1, p. 27-35, 2002.

MACKLIN, K. S., NORTON, R. A.; McMURTREY, B. L. Scratches as a component in the pathogenesis of avian cellulitis in broiler chickens exposed to cellulitis origin *Escherichia coli* isolates collected from different regions of the USA. Avian Pathology.v.28, n. 6, p. 573-578, 1999.

MORENG, R. E. & AVANS, J. S. Ciência e Produção de Aves. São Paulo: Roca, 1990. 380p.

PEIGHAMBARI, S. M.; VAILLANCOURT, J. P.; WILSON, R. A.; GYLES, C. L. Characteristics of *Escherichia coli* isolates from avian cellulitis. Avian Diseases.v.39, n.1, p. 116-124, 1995.

RAJI, M. A.; ADEKEYE, J. O.; KWAGA, J. K. P.; BALE, J. O. O. *In vitro* and *in vivo* pathogenicity studies of *Escherichia coli* isolated from poultry in Nigeria. Israel Veterinary Medical Association, v.58, n.1, 2003. Disponível em <[http://www.isrvm.org/article/58\\_1\\_6.htm](http://www.isrvm.org/article/58_1_6.htm)>. Acesso em: 3 de ago. de 2006.

ROSENBERGER, J. K.; FRIES, P. A.; CLOUD S. S.; WILSON, R. A. *In vitro* and *in vivo* characterization of avian *Escherichia coli*. II. Factors associated with pathogenicity. Avian Diseases v. 29, n.4, p. 1094-1107, 1985.

SALLE, C.T.P & SILVA, A.B. Prevenção de doenças/manejo profilático/monitoração. In: BERCHIERI JUNIOR, A. & MACARI, M. Doenças das Aves. 1ª Ed. Campinas: FACTA, 2000. p. 3-12. 505p.

SOUZA, G. F. Estabelecimento de uma nova metodologia para o cálculo do índice de patogenicidade em amostras de *Escherichia coli* provenientes da produção de frango de corte. 47p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

UBABEF.Relatório Anual UBABEF 2012. Disponível em <[http://www.abef.com.br/ubabefnovo/publicacoes\\_relatoriosanuais.php](http://www.abef.com.br/ubabefnovo/publicacoes_relatoriosanuais.php)>. Acesso em: 18 de mar. de 2013.

## **NOTIFICAÇÕES DE MORTALIDADE DE AVES FEITAS AO SERVIÇO VETERINÁRIO OFICIAL ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL (REGIÃO DO VALE DO TAQUARI E ADJACÊNCIAS) EM 2012**

<sup>1</sup>Flávia Bornancini Borges Fortes, Felipe Lopes Campos, Gisele Cristine Branco, Valéria Cristina Rocha Campos

<sup>1</sup> *Universidade Federal do Rio Grande do Sul-CDPA/UFRGS*

**RESUMO:** A avicultura é um segmento agropecuário de grande relevância no estado do Rio Grande do Sul, tendo como principais regiões produtoras a Serra Gaúcha e a região do Vale do Taquari. Nessa região existem aviários de frangos de corte, granjas matrizeiras e avoazeiras, bem como granjas de postura comercial, que juntas somam aproximadamente 44.000.000 de aves, incluindo também as mantidas para subsistência. Considerando essa grande aglomeração, verifica-se a importância de um intenso controle sanitário dos animais, visando prevenir e, se for o caso, controlar de forma ágil e eficiente qualquer ocorrência de ordem sanitária, procurando evitar a dispersão do agente patogênico em questão. No que tange ao setor público, e neste trabalho trataremos da atuação do Serviço Veterinário Oficial Estadual (SVOE), cabe, dentre outras atribuições, receber as notificações e investigar as causas de mortalidades atípicas em qualquer espécie de ave, incluindo aves de produção cujas taxas de mortalidade chegaram aos índices previstos na legislação vigente. O objetivo deste estudo foi realizar um levantamento sobre as causas de mortalidades de aves ocorridas no ano de 2012 na região do Vale do Taquari e adjacências. Em 2012 ocorreram 29 notificações de mortalidade atendidas pelo SVOE. Erro de manejo foi o principal diagnóstico com 37,9% dos casos, seguido de estresse térmico (31%), Aspergilose (6,9%), Colibacilose (6,9%), Deficiência nutricional (3,5%), Onfalite (3,5%), Salmonelose (3,5%) e Refugagem (3,5%). Apenas um caso ainda está sem diagnóstico, aguardando a análise laboratorial. Concluiu-se que as principais causas de mortalidade referiram-se a um manejo inadequado e estresse térmico,

demonstrando a necessidade de treinar adequadamente os integrados e funcionários e realizar melhorias no suporte energético das granjas (fornecimento de luz e uso de geradores). Estudos como este são relevantes para o SVOE delinear estratégias de defesa sanitária em avicultura, tendo em vista a manutenção do *status* sanitário de nossos plantéis.

**Palavras-Chave:** Avicultura; mortalidade; notificações; erro de manejo

## INTRODUÇÃO

A avicultura é um segmento agropecuário de grande relevância no estado do Rio Grande do Sul, tendo como principais regiões produtoras de frangos a Serra Gaúcha e o Vale do Taquari, que se localiza na região central do estado, sendo formado por 36 municípios. Nessa região existem aviários de frangos de corte, granjas matrizeiras e avozeiras, bem como granjas de postura comercial, que juntas somam aproximadamente 44.000.000 de aves, incluindo também as mantidas para subsistência, conforme dados da Secretaria de Agricultura, Pecuária e Agronegócio (SEAPA) do Estado do Rio Grande do Sul. A estrutura funcional da SEAPA-RS é formada por diversos departamentos, dentre eles pelo Departamento de Defesa Agropecuária (DDA), dentro do qual se encontram as Supervisões Regionais, que abrangem as Inspetorias de Defesa Agropecuária. A SEAPA-RS possui 19 Supervisões Regionais espalhadas por todo o estado, sendo que a Supervisão Regional de Estrela é a responsável pela região do Vale do Taquari e adjacências, contando com 15 Inspetorias de Defesa Agropecuária que atendem 52 municípios.

O Vale do Taquari e municípios adjacentes possuem papel relevante na avicultura do RS, merecendo especial atenção do Serviço Veterinário Oficial Estadual (SVOE) devido a grande aglomeração de aves existente, sendo a criação de frangos de corte a de maior destaque. Assim, verifica-se a importância de um intenso controle sanitário dos animais, visando prevenir e, se for o caso, controlar de forma ágil e eficiente qualquer ocorrência de ordem sanitária, procurando evitar a dispersão do agente patogênico em questão. O trabalho do SVOE na área de avicultura é baseado nas



legislações federais e estaduais vigentes, em especial as que se referem ao Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) e ao Programa Estadual de Sanidade Avícola (PESA). Ao SVOE cabe, dentre outras atribuições, receber as notificações e investigar as causas de mortalidades atípicas em qualquer espécie de ave, conforme preveem o item 4.1 do Plano de Contingência para Influenza Aviária e Doença de Newcastle (MAPA, 2009) e as Instruções Normativas nº 32 em seu Capítulo V (MAPA, 2002) e nº 17 em seu 5º Artigo, inciso 7º (MAPA, 2006). Além disso, também é atribuída ao SVOE a verificação de mortalidades em granjas de aves de produção cujos percentuais alcançaram os índices previstos no Ofício Circular/DSA nº 7 (MAPA, 2007) a fim de constatar se a causa de tais mortalidades foi infecciosa, provocada por sinistro (incêndios, inundações, tempestades, etc.) ou decorrente de falhas humanas (erro de manejo). Após esta verificação o SVOE delineia sua atuação, definindo a necessidade de colheita de material e aplicação dos demais procedimentos no caso de uma suspeita fundamentada de doença de notificação obrigatória.

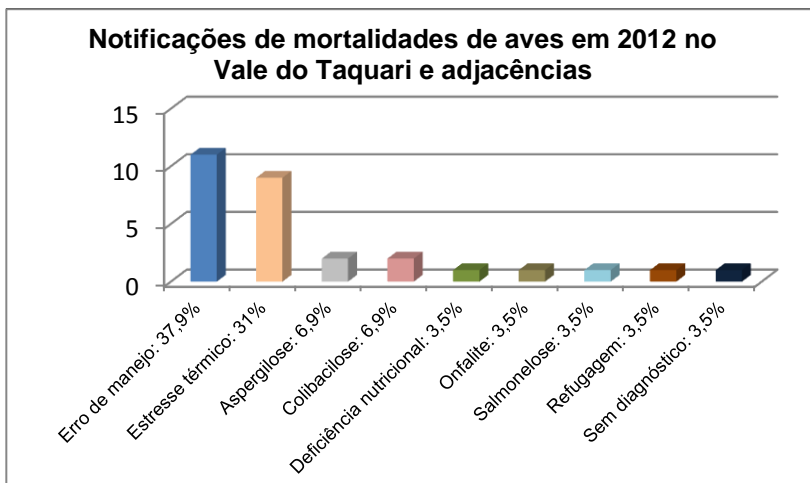
O objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento sobre as notificações de mortalidade de aves recebidas pelo SVOE na região do Vale do Taquari e adjacências no ano de 2012. Estudos como este são de grande relevância para que o SVOE possa estabelecer quais são as causas mais frequentes nas mortalidades de aves em cada região do estado, visando poder preparar de forma adequada os médicos veterinários oficiais através de treinamentos e cursos. Além disso, os dados obtidos também auxiliam na definição de que tipo de material é necessário manter nas Inspetorias de Defesa Agropecuária para o atendimento das notificações de mortalidades de aves, como, por exemplo, material para realização de necropsia e colheita de amostras, meios de cultura, equipamentos de proteção individual, formulários, entre outros.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foi realizado um levantamento sobre todos os Formulários de Investigação de Doenças (Inicial) (FORM-IN) abertos pelos Médicos Veterinários Oficiais Estaduais (MVOE) atuantes nas unidades responsáveis pelos municípios do Vale do Taquari e adjacências, entre os meses de janeiro e dezembro de 2012 relacionados a mortalidades de aves. Estes documentos foram enviados pelos MVOE para a Supervisão Regional de Estrela para que lá fossem compilados e enviados para a Divisão de Controle e Informações Sanitárias.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em 2012 ocorreram 29 notificações de mortalidade atendidas pelo SVOE no Vale do Taquari e adjacências. Erro de manejo foi o principal diagnóstico com 37,9% dos casos, seguido de estresse térmico (31%), Aspergilose (6,9%), Colibacilose (6,9%), Deficiência nutricional (3,5%), Onfalite (3,5%), Salmonelose (3,5%) e Refugagem (3,5%). Apenas um caso ainda está sem diagnóstico, aguardando o resultado da análise laboratorial (Figura 1).



**Figura 1.** Notificações de mortalidades de aves em 2012 no Vale do Taquari e adjacências

Ao verificar os resultados obtidos através deste levantamento se observou que as causas mais frequentes de mortalidades de aves foram erro de manejo e estresse térmico, demonstrando a necessidade de treinar adequadamente os integrados e funcionários das granjas e realizar melhorias no suporte energético das mesmas (fornecimento de luz e uso de geradores). Nos casos de falta de energia elétrica em virtude de sobrecarga ou temporal o SVOE tem como rotina solicitar cópia do boletim de ocorrência que o produtor rural realizou na delegacia de polícia de seu município em virtude do ocorrido para anexá-lo junto ao FORM-IN. Em relação às enfermidades notificadas em todos os casos foi descartada a hipótese de ocorrência de Influenza Aviária e Doença de Newcastle. A realização de outros estudos, porém com enfoques diferenciados, considerando, por exemplo, a época do ano em que ocorreram as mortalidades ou o tipo de ave acometida (frango de corte, matrizes, postura comercial, subsistência) também trarão informações relevantes para que se conheçam melhor as causas de mortalidade comumente encontradas nas aves alojadas em nosso estado, facilitando assim a detecção de ocorrências que

exijam maior atenção por parte do SVOE. Trabalhos como este são importantes, pois fornecem ferramentas para o desenvolvimento de estratégias de defesa sanitária em avicultura no estado do Rio Grande do Sul, visando à manutenção do *status* sanitário de nossos plantéis.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Plano de contingência para Influenza Aviária e Doença de Newcastle. Versão 1.3. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2009. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/sanidade-animal>>. Acesso em: 01 de março de 2013.

BRASIL. Ofício Circular/DSA nº7, de 24 de janeiro de 2007. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2007.

BRASIL. Instrução Normativa nº32, de 13 de maio de 2002. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2007.

BRASIL. Instrução Normativa nº17, de 07 de abril de 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2006.

## **AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *Escherichia coli* DE ORIGEM AVIÁRIA ISOLADAS NO RIO GRANDE DO SUL**

<sup>1</sup>Thales Quedi Furian, <sup>1</sup>Leonardo Moreira Lima, <sup>1</sup>Karen  
Apellanis Borges, <sup>1</sup>Silvio Luis da Silveira Rocha, <sup>1</sup>Felipe  
Oliveira Salle, <sup>1</sup>Carlos Tadeu Pippi Salle

<sup>1</sup>*Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária, Faculdade de  
Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Av.  
Bento Gonçalves, 8824. CEP: 91540-000. Porto Alegre/RS*

**RESUMO:** *Escherichia coli* é uma bactéria constituinte da flora intestinal dos animais e dos seres humanos. Entretanto, alguns sorogrupos de *E. coli* estão associados a diversas patologias, inclusive em aves, destacando-se a Doença Crônica Respiratória, a celulite, além da relação do agente com toxinfecções alimentares. O tratamento com antimicrobianos consiste em uma medida comum para o controle da colibacilose. Contudo, o uso intenso destes medicamentos, associado com as subdosagens terapêuticas, acelera o desenvolvimento de resistência aos antibióticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a susceptibilidade de 40 amostras de *E. coli*, divididas em patogênicas e apatogênicas, frente a quatorze antimicrobianos através do teste de difusão em ágar. Os resultados demonstraram uma alta resistência das amostras analisadas à tetraciclina e à sulfametoxazole-trimetoprim. A resistência a duas ou mais drogas foi encontrada em 75% das amostras patogênicas e em 65% das amostras apatogênicas de *E. coli*. Todos os isolados testados foram sensíveis aos antimicrobianos ceftiofur, cefuroxima, ampicilina e amoxicilina/ácido clavulânico. Não se constatou diferença significativa entre os resultados comparando-se os dois grupos de *E. coli*.

**Palavras-Chave:** colibacilose, susceptibilidade antimicrobiana, disco-difusão.

## INTRODUÇÃO

A bactéria *Escherichia coli* está amplamente distribuída na natureza e na microbiota entérica de animais e de seres humanos. Em aves, a infecção causada por *E. coli* é geralmente secundária a outros agentes e a manifestação da doença ocorre de maneira extra-intestinal (FILHO, 2007). Atualmente a colibacilose é considerada uma das principais doenças da avicultura industrial e o tratamento com antibióticos é uma das formas de diminuir o seu impacto (FERREIRA & KNÖBL, 2009). As drogas antimicrobianas são utilizadas extensivamente na indústria avícola, desde a introdução do uso de antibióticos em meados da década de 50 (BARNES et al., 2008). Em paralelo ao intenso emprego dos agentes quimioterápicos, ocorreu um progressivo desenvolvimento de resistência antimicrobiana associado com as subdosagens terapêuticas, a qual foi inicialmente identificada no uso das tetraciclínas (BARBOSA & LEVY, 2000; BARNES et al., 2008). Em diferentes situações, o desenvolvimento de resistência por certas bactérias patogênicas é mais rápido do que a capacidade da indústria farmacêutica em produzir novas drogas (MOTA et al., 2005).

Algumas formas de resistência são propriedades inerentes de todos os microorganismos, pois se trata de um mecanismo próprio de sobrevivência. Este fato justifica a origem de genes codificadores de resistência a antibióticos, os quais podem disseminar-se entre os microorganismos a partir de transferência horizontal (MADIGAN et al., 2010). Em geral, as atividades essenciais de uma bactéria são codificadas por genes cromossomais e as não-essenciais, como a resistência antimicrobiana são codificadas por elementos genéticos móveis extra-cromossomais (MOTA et al., 2005). O conjunto destes elementos, formado por plasmídeos, transposons e integrons, interage entre si, facilitando a transferência horizontal de genes de resistência entre bactérias de grupos filogenéticos distantes.

Em virtude da ampla resistência aos antibióticos, bactérias isoladas devem ser submetidas aos testes de sensibilidade utilizando-se os métodos de diluição em caldo ou de difusão em ágar (MADIGAN et al., 2010). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resistência antimicrobiana de amostras de *E. coli*

patogênicas e apatogênicas de origem aviária frente a quatorze antimicrobianos através do teste de susceptibilidade de disco difusão em ágar.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de *E. coli* utilizadas neste experimento foram anteriormente isoladas e identificadas no Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CDPA-UFRGS). Selecionaram-se 20 amostras de *E. coli* patogênicas e 20 amostras apatogênicas anteriormente classificadas por Souza (2006), e oriundas de lesões cutâneas, de quadros respiratórios e de fezes coletadas em cama de aviário. O teste de susceptibilidade por disco difusão em ágar foi realizado conforme as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)(CLSI, 2008). Os seguintes antimicrobianos (*Biorad®*) foram utilizados: amicacina (30µg), amoxicilina + ácido clavulânico (20µg/10µg), ampicilina (10µg), cefalexina (30µg), cefuroxima (30µg), ceftiofur (30µg), ciprofloxacina (5µg), clindamicina (2µg), enrofloxacina (5µg), gentamicina (10µg), norfloxacina (10µg), ofloxacina (5µg), tetraciclina (30µg), sulfametoxazol-trimetoprim (23,75µg /1,25µg). As cepas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) foram selecionadas para o controle de qualidade do teste de susceptibilidade. O diâmetro de cada halo de inibição foi comparado com os padrões propostos e cada cepa classificada como sensível, resistente ou intermediário frente aos quatorze antimicrobianos (CLSI, 2008). Para a análise estatística (Fisher's test) foi utilizado o programa SPSSStatistic 21.0 em um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Muitos trabalhos recentes que estudaram a susceptibilidade de cepas de *E. coli* aos antibióticos em diferentes espécies apresentam algum nível de resistência antimicrobiana, ocorrendo algumas variações de acordo com a região geográfica avaliada (BARNES et al, 2008). Os resultados obtidos neste experimento são semelhantes aos recentemente citados na literatura (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resistência antimicrobiana das 40 amostras de *E. coli* analisadas frente aos quatorze antimicrobianos selecionados

Antimicrobianos	Patogênicas		Apatogênicas	
	Total	%	Total	%
Ceftiofur	0	0	0	0
Ciprofloxacina	1	5	1	5
Cefuroxime	0	0	0	0
Gentamicina	4	20	0	0
Ampicilina	2	10	2	10
Clindamicina	20	100	20	100
Norfloxacina	0	0	1	5
Amicacina	0	0	0	0
Amoxicilina + Ác. Clav.	0	0	0	0
Ofloxacina	3	15	1	5
Tetraciclina	12	60	11	55
Cefalexina	0	0	1	5
Trimetropim + Sulfa.	11	55	8	40
Enrofloxacina	5	25	3	15

As maiores resistências aos antimicrobianos foram encontradas entre a tetraciclina (60% entre patogênicas e 55% entre apatogênicas) e sulfametoxazol-trimetoprim (55% entre patogênicas e 40% entre apatogênicas). A alta frequência de resistência à tetraciclina está de acordo com outros trabalhos publicados (ZAKERI & KASHEFI, 2012; ZHAO et al., 2005; VAN DEN BOGAARD et al., 2001) e têm sido atribuída, em parte, a sua utilização generalizada e prolongada na indústria avícola. A resistência a esta droga geralmente é associada com plasmídeos R e mediada por genes de efluxo *tetB* e *tetD* (ALEKSHUN & LEVY, 2007). Entre todos os agentes quimioterápicos selecionados, 75% das amostras patogênicas e 65% das amostras apatogênicas foram resistentes a dois ou mais antimicrobianos.



As 20 amostras patogênicas e as 20 amostras apatogênicas de *E. coli* testadas neste experimento foram 100% sensíveis aos antimicrobianos ceftiofur, cefuroxima, ampicilina, amoxicilina + ácido clavulânico. Também se observou que as amostras estudadas não apresentaram diferença significativa relacionando-se os seus índices de patogenicidade com a susceptibilidade aos antimicrobianos.

Todas as cepas de *E. coli* testadas apresentaram resistência frente a uma ou mais antimicrobianos. Os dois grupos de amostras não apresentaram diferença significativa entre os resultados de resistência antimicrobiana, desta forma a patogenicidade de uma amostra não pode ser considerada um fator primordial para a resistência a uma determinada droga nas condições deste experimento.

## REFERÊNCIAS

- ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. **Cell**, Maryland Heights, v.128, n. 6, p.1037- 1050, 2007.
- BARBOSA, T. M.; LEVY, S. B. The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. **Drug resistance Updates**, Philadelphia, v.3, n. 5, p.303-311, 2000.
- BARNES, H. J.; NOLAN, L. K.; VAILLANCOURT, J. P. Colibacillosis. In: SAIF, Y.M. **Disease of Poultry**. 12<sup>th</sup> ed. IOWA: Blackwell Publishing, 2008. p.691-737.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From animals. Approved Standard - Third Edition. **CLSI document M31-A3**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. Colibacilose. In: JÚNIOR, A. B. et al. **Doenças das Aves**. 2<sup>a</sup>ed. São Paulo: FACTA, 2009. p.457-471.
- FILHO, R. L. A. Colibacilose Aviária. In: FILHO, R.L.A. **Saúde Aviária e Doenças**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: Roca, 2007. p. 112-117.

MADIGAN, M. T. et al. ResistênciaAntimicrobiana. In: MADIGAN, M.T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p.802-804, 2010.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M.F.L.; PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p.465-470, 2005.

HASAN, B.; SANDEGREN, L.; MELHUS, A.; DROBNI, M.; HERNANDEZ, J.; WALDENSTRÖM, J.; ALAM, M.; OLSEN, B. Antimicrobial Drug-Resistant *Escherichia coli* in Wild Birds and Free-range Poultry, Bangladesh. **Emerging Infection Disease**, Atlanta, v. 18, n.12, p. 2055–2058, 2012.

SOUZA, G. F. Estabelecimento de uma nova metodologia para o cálculo do índice de patogenicidade em amostras de *Escherichia coli* provenientes da produção de frango de corte. 48f. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)** – Faculdade Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

VAN DEN BOGAARD, A. E.; LONDON, N.; DRIESSEN, C.; STOBBERINGH, E. E.; Antibiotic Resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, in poultry farmers and poultry slaughterers. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Birmingham, v.47, n. 6, p.763-771, 2001.

ZAKERI, A.; KASHEFI, P. Antimicrobial susceptibilities of avian *Escherichia coli* isolates in Tabriz, Iran. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n. 19, pp. 4467-4470, 2012.

ZHAO, S.; MAURER, J. J.; HUBERT, S.; VILLENA, J. F.; MCDERMOTT, P. F.; MENG, J.; AYERS, S.; ENGLISH, L.; WHITE, D. G. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. **Veterinary Microbiology**, v.107, n. 3-4, p.215-224, 2005.

## ISOLAMENTO DE ESPÉCIES DE *Campylobacter* spp TERMOTOLERANTES EM LOTES DE FRANGOS DE CORTE

<sup>1</sup>Gustavo Perdoncini, <sup>1</sup>Leonardo Moreira Lima, <sup>1</sup>Michele  
Martins Trindade, <sup>1</sup>Yuli Melisa Sierra Arguelo, <sup>1</sup>Daiane  
Carvalho, <sup>1</sup>Vladimir Pinheiro do Nascimento<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária, Faculdade de  
Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Av.  
Bento Gonçalves, 8824. CEP: 91540-000. Porto Alegre/RS

**RESUMO:** Bactérias termotolerantes do gênero *Campylobacter* sp são responsáveis pela campylobacteriose e ganham destaque devido a sua alta notificação envolvendo gastroenterites e doenças de origem alimentar em seres humanos, sendo o frango o principal transmissor desta bactéria. Este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em frangos de corte com Inspeção Federal no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram avaliados seis lotes de frangos de corte através da coleta de 300 swabs de cloaca e rinsagem de três carcaças após a saída do chiller, ambas realizadas em cada um dos lotes avaliados. As amostras foram cultivadas em caldo Bolton, plaqueadas em ágar mCCDA, e incubadas em microaerofilia a 41,5°C por 48 horas. Colônias suspeitas foram repicadas em ágar sangue ovino 7% e incubadas nas mesmas condições anteriores, seguido da caracterização através do ensaio de multiplex-PCR para *Campylobacter jejuni* e *C. coli*. Do total de lotes, 66,66% (4/6) foram positivos para *C. jejuni* na análise de swab de cloaca. Porém, um dos lotes que foi negativo ao swab de cloaca apresentou resultado positivo na rinsagem de carcaças, assim totalizando 83,33% dos lotes positivos para este agente, o que indica possível ocorrência de contaminação ao longo do processamento. Em relação a avaliação individual de carcaças, 61,11% (11/18) foram positivas para *C. jejuni*. Não foi identificada a presença de *C. coli* nas amostras avaliadas. Mesmo com medidas higiênicas empregadas na indústria foi possível identificar a presença do agente pesquisado nas

carcaças de frangos após o *chiller*, bem como, encontrar possível contaminação cruzada durante o processamento.

**Palavras-Chave:** aves, diarreia, infecção alimentar, saúde pública, zoonose.

## INTRODUÇÃO

O Brasil tem ganhado destaque no cenário mundial por sua produção e atuação no mercado internacional de carne de frango, consolidando-se como um setor competitivo e com grande potencial de expansão. Segundo dados da União Brasileira de Avicultura - UBABEF, em 2011 a produção de carne de frango chegou a 13,058 milhões de toneladas e o consumo *percapita* foi de 47,4 kg, alta de 6,8% e 7,5% respectivamente em relação a 2010.

Considerando o rápido crescimento do setor e a necessidade de produzir alimentos seguros, a adoção de medidas para o controle sanitário das granjas e das indústrias é fundamental para evitar surtos de doenças de origem alimentar por produtos avícolas. Atualmente, bactérias do gênero *Campylobacter* – responsáveis pela campylobacteriose - são as mais notificadas em relatos de gastroenterite na União Européia (EFSA, 2009) e o segundo agente mais isolado em doenças de origem alimentar nos Estados Unidos (CDC, 2009), o que torna necessário o conhecimento mais aprofundado sobre esse microrganismo.

O conhecimento da situação desse agente em carcaças de frangos constitui-se num parâmetro importante para a determinação da qualidade microbiológica e da inocuidade dos alimentos (HALD et al, 2000). Embora boas práticas de higiene e biossegurança nas granjas auxiliem na redução da contaminação das carcaças no abatedouro frigorífico, medidas durante o abate devem ser também efetuadas para reduzir a contaminação cruzada entre as carcaças (PATISON, 2001; BOYSEM, 2009). As avaliações de risco sugerem que a redução da concentração *Campylobacter* spp. em granjas, impactam diretamente no número de casos humanos com campylobacteriose (BOYSEN, 2009).

Esses patógenos entéricos apresentam-se na forma de pequenos bastonetes Gram negativos, curvos ou espiralados (também conhecido como asa de gaivota), oxidase positiva, não esporulados, com tamanho de 0,2 µm a 0,9 µm de largura e 0,2 µm a 0,5 µm de comprimento (SENAI, 2000; BUTZLER, 2004; JOES et al, 2010). Crescem melhor num ambiente de microaerofilia, com atmosfera de 5 a 7% de O<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> e 85% de N<sub>2</sub> a uma temperatura de 41,5°C.

Devido à crescente importância deste microrganismo, este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em lotes de frangos de corte com Inspeção Federal no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Coletas das amostras

Para a realização deste estudo foram avaliados seis lotes de frango de corte através da coleta de 300 *swabs* de cloaca e rinsagem de três carcaças após a saída do *chiller* (resfriamento por imersão), ambas realizadas em cada um dos lotes avaliados.

Após o ingresso das aves no abatedouro-frigorífico, foram realizados 3 *pools* de 50 *swabs*, sendo um *swab* para cada duas aves, totalizando 300 frangos por lote. Após a coleta, os *swabs* foram imersos em 50 mL de Caldo Brucela para serem encaminhados ao laboratório.

As carcaças coletadas após o *chiller* foram armazenadas em sacos estéreis individuais, lacradas, identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo. As amostras coletadas foram transportadas para processamento bacteriológico no Laboratório de Bacteriologia - LABACVET - da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS.

## Isolamento Bacteriano

As amostras de *swabs* de cloaca foram encaminhadas para o laboratório juntamente com as carcaças resfriadas que foram rinsadas com 400 mL de Água Peptonada Tamponada – APT 1% (Oxoid®). A partir do líquido da rinsagem e das amostras de *swabs* de cloaca, uma alíquota de 1 mL de cada uma foi retirada e homogeneizado em 9 mL de caldo Bolton (1:9), suplementado com antimicrobianos e incubados em microaerofilia (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> e 85% N<sub>2</sub>) por 48h a uma temperatura de 41,5°C.

Após a incubação, 100µL da suspensão do caldo foi filtrado em uma membrana de acetato com poro de 0,65µm (SKIRROW, 1977; BOLTON, 1982) acrescentada sobre ágar mCCDA modificado (CM739, Oxoid®) por 30 minutos e incubado em microaerofilias mesmas condições anteriores. As colônias bacterianas suspeitas foram replicadas em ágar sangue de ovino a 7% e avaliadas em microscopia em contraste de fase, seguidas da coloração de Gram, testes de oxidase, catalase e motilidade.

## Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Para a identificação final das colônias, estas foram coletadas e suspensas em 1mL de água ultra pura, transferidas para microtubos e congeladas a uma temperatura de -20°C até o momento da extração do DNA. Estas amostras foram identificadas a partir da utilização de um ensaio multiplex-PCR (m-PCR).

O protocolo utilizado visou identificar e diferenciar as espécies de *Campylobacter* spp. (*C. jejuni* ou *C. coli*), bem como identificar uma região em comum de DNA entre as duas espécies. Os DNAs avaliados foram extraídos através de protocolo descrito por Borsoi (2009) e o ensaio de multiplex utilizado foi adaptado a partir do trabalho publicado por Dennis et al (1999). Para o m-PCR foram utilizados três pares de *primers* distintos em cada reação, sendo um específico para amplificação de um fragmento genômico de *C. coli* (462 pb), outro para *C. jejuni* (589 pb) e um terceiro para amplificar uma região em comum das espécies de *Campylobacter jejuni* e *C. coli*, conforme descrito na tabela 1.

**Tabela 1.** Sequência dos *primers* e comprimento dos fragmentos amplificados

Gene	Sequência de <i>primer</i>			Amplificação
16SrRN A	16S1	5'	ATCTAATGGCTTAACCATTAAAC	857 pb para região em comum das espécies <i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>
		3'		
	16S2	5'	GGACGGTAACTAGTTTAGTATT	589 pb para a espécie <i>C. jejuni</i>
		3'		
Mapa	MAPA 1	5'	CTATTTTATTTTGAGTGCTTGTG	
		3'		
	MAPA 2	5'	GCTTTATTTGCCATTTGTTTTATT	
		A 3'		
ceuE	col3	5'	AATTGAAAATTGCTCCAACATG	462 pb para espécie <i>C. coli</i>
		3'		
	col2	5'	TGATTTTATTATTGTAGCAGCG	
		3'		

Fonte: Denis *et al.*, 1999

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de lotes, 66,66% (4/6) foram positivos para *C. jejuni* na análise de *swab* de cloaca. Porém, um dos lotes que foi negativo ao suabe de cloaca apresentou resultado positivo na rinsagem das carcaças, assim totalizando 83,33% dos lotes positivos para este agente, o que indica possível ocorrência de contaminação ao longo do processamento (Tabela 2). Em relação à avaliação individual das carcaças, 61,11% (11/18) foram positivas para *C. jejuni*.

**Tabela 2.** Resultados dos lotes pesquisados

<b>Coleta</b>	<b>Swab de cloaca</b>	<b>Carcaça depois da saída do <i>chiller</i></b>
1	<i>Campylobacterjejuni</i>	Negativo Negativo <i>Campylobacterjejuni</i>
2	<i>Campylobacterjejuni</i>	<i>Campylobacterjejuni</i> <i>Campylobacterjejuni</i> <i>Campylobacterjejuni</i>
3	<i>Campylobacterjejuni</i>	<i>Campylobacterjejuni</i> <i>Campylobacterjejuni</i> <i>Campylobacterjejuni</i>
4	<i>Campylobacterjejuni</i>	<i>Campylobacterjejuni</i> Negativo Negativo
5	Negativo	<i>Campylobacterjejuni</i> <i>Campylobacterjejuni</i> <i>Campylobacterjejuni</i>
6	Negativo	Negativo Negativo Negativo

Da mesma forma, Klein et al (2007) avaliaram a prevalência do comportamento de *Campylobacter* sp. em 3 lotes de frangos de corte (33 em cada) em diversos pontos de abate e posterior processamento dos frangos. Das amostras, 51,5% foram positivas para *Campylobacter* sp. e a prevalência por ponto apresentaram a seguinte distribuição: swab de cloaca (73,3%), água de escaldagem (77,8%), carcaças após escaldagem e depenagem (53,3%), carcaças após evisceração (66,7%), carcaças refrigeradas (40%), peito com pele (33,3%) e filé (26,7%).



## CONCLUSÃO

Mesmo com medidas higiênicas empregadas na indústria foi possível identificar a presença do agente pesquisado nas carcaças de frangos após o *chiller*, bem como, encontrar possível contaminação cruzada durante o processamento. A avaliação operacional dos abatedouros bem como a biossegurança de todo segmento avícola são pontos importantes para garantir a ausência de *Campylobacter* sp. no produto final (PERDONCINI, 2012). Há outros fatores também importantes, como por exemplo, lotes positivos e o treinamento dos funcionários que influenciam a qualidade microbiológica do produto final (MALHER et al, 2011).

Destaca-se a necessidade de maior atenção à gestão da qualidade em empresas industrializadoras e comercializadoras de produtos de origem animal a estratégias de segurança alimentar, ou seja, a implementação de programas de qualidade tais como Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) a fim de obter alimentos mais seguros a população.

## APOIO FINANCEIRO

CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

## REFERÊNCIAS

BOYSEN, L., KONOCHEL, S.; ROSENQUIST, H. Survival of *Campylobacter jejuni* in different gas mixtures. FEMS Microbiology Letters, n. 266, p. 152-157, 2006.

BORSOI, A. *et al.* Na inoculation of newly hatched broiler chicks with two Brazilian isolates of *Salmonella* Heidelberg strains with different virulence gene profiles, antimicrobial resistance and pulsed field gel electrophoresis patterns to intestinal changes evaluation. Poultry Science, v. 88, , p. 750-758, 2009.

BUTZLER, J.P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. Clinical Microbiological and Infection. v. 10, n. 10, p. 868-876, 2004.

CDC - Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food - 10 States, 2009. Morbidity and Mortality Weekly Report; v.19, p.418-422, 2010.

DENIS, M.; SOUMET, C.; RIVOAL, K.; ERMEL, G.; BLIVET, D.; SALVAT, G.; COLIN, P. Development of a m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. Letters in Applied Microbiology, v. 29, p. 406–410. 1999.

EFSA - European Food Safety Authority. Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. The EFSA Journal, 310p. 2009.

HALD, B.; WEDDERKOPP, A.; MADSEN, M. Thermophilic *Campylobacter* spp. in Danish broiler production: A cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks, Avian Pathology, v. 29, n.2, p.123-131, 2000.

JOES, L. A.; HAESEBROUCK, F.; PASMANS, F. *Campylobacter* and *Helicobacter*, In: GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, G.; THOEN, C. O. Pathogenesis of bacterial Infections in animals. Iowa: Blackwell Publishing, 2010. p. 484-501.

KLEIN, G; REICH, F; BECKMAN, L; V. Quantification of thermophilic *Campylobacter* spp. in broilers during meat processing. **Antonie Van Leeuwenhoek**. n.92, p.267-273.2007.

PERDONCINI, G. **Prevalência de *Campylobacter jejuni* e *C. coli* em carcaças de aves após o pré-resfriamento por imersão**. 35p. Monografia (Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Produtos de Origem Animal), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2012.

PATTISON, M. Practical intervention strategies for *Campylobacter*. Journal of Applied Microbiology, v. 90 (Supplement), p. 121-125, 2001.

SENAI. Elementos de Apoio para o APPCC. Projeto APPCC. Brasília, 2000.

## **VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS: DETECÇÃO E GENOTIPAGEM EM LOTES DE MATRIZES E FRANGOS DE CORTE DO BRASIL**

Aline Padilha de Fraga<sup>1,2</sup>; Eder Balestrin<sup>1,3</sup>; Nilo Ikuta<sup>1,2</sup>;  
Vagner Ricardo Lunge<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Laboratório de Diagnóstico Molecular da Universidade Luterana do Brasil - ULBRA - Canoas - RS - Brasil*

<sup>2</sup>*Simbios Biotecnologia - Cachoeirinha - RS - Brasil*

<sup>3</sup>*BrasilFoods - BRF - Videira - SC - Brasil*

**RESUMO:** A bronquite infecciosa (BI) é uma doença viral contagiosa de aves de produção que causa impacto econômico na agroindústria avícola. A BI apresenta sinais clínicos respiratórios, renais, entéricos e/ou reprodutivos. O vírus da BI (VBI) possui diferentes genótipos (vacinais e variantes) disseminados nos plantéis de produção avícola do Brasil. Este trabalho teve como objetivo detectar o VBI (com caracterização do genótipo) em lotes de matrizes e frangos de corte de diferentes regiões do Brasil. Os lotes foram comparativamente analisados quanto à idade e sistemas fisiológicos acometidos. As amostras consistiram de *pools* de órgãos de 198 lotes de frangos e 234 de matrizes, com sintomatologia compatível com BI, obtidos de granjas das Regiões Sul, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil. A metodologia consistiu na detecção do VBI por RT-PCR da região 3'UTR e genotipagem por RT-nested-PCR e sequenciamento do gene S1. Os resultados demonstraram prevalência similar do VBI nas granjas das diferentes regiões do país, com frequência maior em frangos (média 54%  $\pm$  8,4) do que matrizes (média 30,8%  $\pm$  5,4). O VBI foi detectado em todas as idades e com maior frequência no sistema digestório nas matrizes (40%), mas sem diferença entre os sistemas digestório (43,5%) e respiratório (37,7%) nos frangos. Os genótipos variantes brasileiros foram mais prevalentes do que os vacinais tanto em matrizes como frangos. Estes resultados demonstram que o VBI (principalmente genótipos variantes) está amplamente disseminado em lotes de

produção de diversas idades e das diferentes regiões do Brasil e se encontra prioritariamente em dois sistemas fisiológicos (digestório e respiratório).

**Palavras-Chave:** VBI, genotipagem, variantes brasileiras

## INTRODUÇÃO

A bronquite infecciosa (BI) é uma doença viral, altamente contagiosa, que acomete aves de todas as categorias de produção e causa grande impacto econômico na indústria avícola (CAVANAGH, 2007; CAVANAGH e GELB JR, 2008). A doença pode cursar com sinais respiratórios, renais, entéricos e/ou reprodutivos. A primeira caracterização do vírus da bronquite infecciosa (VBI) no Brasil foi realizada por Hipólito em 1957, que encontrou o sorotipo Massachusetts (Mass) (DE WIT et al., 2011). Posteriormente, todas as amostras brasileiras identificadas pertenciam ao sorotipo Mass, até que foi encontrado um isolado do sorotipo Connecticut (DI FÁBIO et al., 2000). Estudos maiores realizados depois de 2000 revelaram outra realidade, ou seja, a ocorrência e ampla disseminação de variantes locais, inclusive com a proposta de identificação de genótipos específicos do Brasil (CHACÓN et al., 2011; VILLARREAL et al., 2007; VILLARREAL et al., 2010; FELIPPE et al., 2010; FRAGA et al., *in press*). Neste período também foram descritas amostras de VBI compatíveis com o genótipo 4/91 na região Sudeste do Brasil (VILLAREAL et al., 2010). Apesar destes vários estudos de caracterização de sorotipos/genótipos de VBI, informações mais completas sobre a frequência e distribuição geográfica de VBI nos plantéis avícolas brasileiros ainda são escassas e pouco disponíveis na literatura, dificultando o controle e a profilaxia da doença. Este trabalho objetivou avaliar a frequência do VBI e dos seus genótipos em lotes de matrizes e frangos de corte de diferentes regiões, idades e nos diferentes sistemas fisiológicos acometidos por esta enfermidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de 198 lotes de frangos e 234 lotes de matrizes de corte com sintomatologia compatível com BI das regiões Sul, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil. As amostras foram analisadas em *pools* (pulmão, traquéia, *swab* de traquéia, rim, testículos, ovário, oviduto, tonsila cecal e intestinos - delgado e grosso). A detecção do VBI foi realizada utilizando o *kit* NewGene VBIamp (região 3'UTR) conforme protocolo do fornecedor (Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS). Amostras de VBI selecionadas ao acaso (tanto de lotes de frangos como de matrizes de corte) foram submetidas à amplificação e sequenciamento do gene S1 para determinação dos genótipos. Após a detecção e tipificação das amostras, foi realizada análise comparativa dos dados de presença do VBI e seus genótipos por região, idade e sistemas fisiológicos utilizando o teste de Qui-quadrado ( $X^2$ ). Diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença do VBI foi pesquisada em 432 lotes (matrizes e frangos de corte), sendo detectado em 179 (41,4%). Não houve diferença significativa na frequência de VBI entre os lotes de matrizes e frangos de corte nas diferentes regiões pesquisadas. Porém verificou-se que a frequência de VBI em lotes de frangos (média 54%  $\pm$  desvio-padrão 8,4) é significativamente mais elevada que a frequência em lotes de matrizes (média 30,8%  $\pm$  desvio-padrão 5,4) de uma mesma região. Com relação à idade, o VBI foi detectado em 43 lotes de matrizes com idade entre 0 e 33 semanas, e em 28 lotes entre 33,1 e 66 semanas. Em lotes de frangos, o VBI foi detectado em 35 lotes mais precoces (entre 0 e 4,5 semanas), mas também em 67 lotes com idade mais tardia (entre 4,6 e 9,0 semanas). Vários trabalhos recentes também reportam a presença do VBI em lotes de frangos e matrizes de corte de diferentes idades nas regiões Sul, Sudeste (CHACÓN et al., 2011; VILLARREAL et al., 2010), Centro-Oeste e Nordeste (VILLARREAL et al., 2010), confirmando que esta é uma doença amplamente disseminada nos plantéis avícolas do país. Foi realizada a tipificação de amostras de 45 lotes de frango de corte e 34 lotes de matrizes. Apenas 23

(29,1%) amostras eram do genótipo Massachusetts (Mass) e 56 (70,9%) de genótipos variantes brasileiros (BR-I ou BR-II), não sendo detectados outros genótipos. O genótipo Mass foi encontrado em 20 lotes (44,4%) de frango e 3 lotes (8,8%) de matrizes nas 3 diferentes regiões do país. A tipificação demonstrou que o genótipo Mass e as variantes brasileiras estão igualmente distribuídos nos dois intervalos de idade estudados. Porém, constatarem-se diferenças significativas na proporção de VBIs do genótipo vacinal Mass e das variantes brasileiras. Houve uma elevada frequência de Mass (62,5%) nos lotes mais precoces, comparados com os tardios (11,8%).

As variantes brasileiras apresentaram resultado inverso, ou seja, maior frequência em lotes mais tardios (88,2%) em relação aos mais precoces (37,5%). Os nossos dados reafirmam a alta incidência das variantes brasileiras em nosso país no período atual (2010 a 2011), demonstrando que não houve alterações significativas do período de 2003 a 2009 (CHACÓN et al. (2011). Nossos dados também demonstram a não ocorrência dos genótipos 4/91, D207 e Connecticut, descritos respectivamente por Villarreal et al. (2010), Felipe et al. (2010) e Di Fábio et al. (2000). Caso estes genótipos estejam presentes em nosso país, os mesmos devem estar em baixa incidência nas regiões pesquisadas. Em grande parte dos lotes os órgãos do sistema respiratório foram os únicos encaminhados para análise (45,5% em matrizes e 48,2% em frangos). Porém, houve um grande número de lotes onde foram coletadas amostras dos 3 sistemas, dos quais 60 (27,3%) lotes de matrizes e 27 (19,4%) de frangos de corte. Em matrizes, o VBI foi detectado com maior frequência no sistema digestório (32 amostras de um total de 80 analisadas - 40%) do que no sistema respiratório (34 amostras de um total de 196 analisadas - 16,7%) e urogenital (18 amostras de um total de 106 analisadas - 17%), sem diferença significativa entre estes dois últimos. Em frangos de corte não foram encontradas diferenças significativas na detecção do VBI nos sistemas digestório (27 amostras de um total de 62 analisadas - 43,5%) e respiratório (49 amostras de um total de 130 analisadas - 37,7%). Estes resultados demonstram a alta frequência de VBI no Brasil e sugere o envio de amostras do sistema digestório e respiratório concomitantes, para detecção do VBI laboratorialmente. Segundo Cavanagh e Gelb Jr. (2008) amostras de swabs de

traqueia e cloaca podem ser usadas para detecção e tipificação de amostras de VBI. Isso é suportado por diversos estudos que reportam um maior período de detecção do VBI em amostras do tecido digestório (BOROOMAND et al., 2011; DOLZ et al., 2012; EL-HOUADFI et al., 1986). Portanto, a associação de sistema respiratório e digestório parece ser o mais adequado para o correto diagnóstico da doença.

## REFERÊNCIAS

- BOROOMAND, Z., ASASI, K., MOHAMMADI, A. Pathogenesis and Tissue Distribution of Avian Infectious Bronchitis Virus Isolate IRFIBV32 (793/B Serotype) in Experimentally Infected Broiler Chickens. **The Scientific World Journal**. v.2012, 2012. doi:10.1100/2012/402537
- CAVANAGH, D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus (Review). **Veterinary Research**. v.38, p.281-297, 2007.
- CAVANAGH, D., GELB JR, J. Infectious Bronchitis. In: SAIF, Y.M., FADLY, A.M., GLISSON, J.R., MCDUGALD, L.R., NOLAN, L.K., SWAYNE, D.E. **Diseases of Poultry**. 12.ed. Ames: Blackwell, 2008.
- CHACÓN, J.L., RODRIGUES, J.N., ASSAYAG JÚNIOR, M.S., PELOSO, C., PEDROSO, A.C., FERREIRA, A.J.P. Epidemiological survey and molecular characterization of avian infectious bronchitis virus in Brazil between 2003 and 2009. **Avian Pathology**. v.40, n.2, p.153-162, 2011.
- DE WIT, J.J., COOK, J.K.A., VAN DER HEIJDEN, H.M.J. Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. **Avian Pathology**. v.40, n.3, p.223-235, 2011.
- DI FÁBIO, J., ROSSINI, L.I., ORBELL, S.J., PAUL, G., HUGGINS, M.B., MALO, A., SILVA, B.G.M., COOK, J.K.A. Characterization of infectious bronchitis viruses isolated from outbreaks of disease in commercial flocks in Brazil. **Avian Diseases**. v.44, n.3, p.582-589, 2000.
- DOLZ R., VERGARA-ALERT J., PÉREZ M., PUJOLS J., MAJÓ N. New insights on infectious bronchitis virus pathogenesis: characterization of Italy 02 serotype in chicks and adult hens. **Veterinary Microbiology**, v. 156, p. 256-264, 2012.

EL-HOUADFI M., JONES R. C., COOK J. K., AMBALI A. G. The isolation and characterization of six avian infectious bronchitis viruses isolated in Morocco. **Avian Pathology**, v. 15, p. 93-105, 1986.

FELIPPE, P.A.N., SILVA, L.H.A., SANTOS, M.M.A. B., SPILKI, F.R., ARNS, C.W. Genetic Diversity of Avian Infectious Bronchitis Virus Isolated from Domestic Chicken Flocks and Coronaviruses from Feral Pigeons in Brazil Between 2003 and 2009. **Avian Diseases**. v.54, p.1191-1196, 2010.

FRAGA, A.P., BALESTRIN, E., IKUTA, N., FONSECA, A.S.K., SPILKI, F.R., CANAL, C.W., LUNGE, V.R. Emergence of a New Genotype of Avian Infectious Bronchitis Virus in Brazil. **Avian Diseases**. In press, 2013.

VILLARREAL, L.Y.B., BRANDÃO, P.E., CHACÓN, J.L., SAIDENBERG, A.B.S., ASSAYAG, M.S., JONES, R.C., FERREIRA, A.J.P. Molecular Characterization of Infectious Bronchitis Virus Strains Isolated from the Enteric Contents of Brazilian Laying Hens and Broilers. **Avian Diseases**. v.51, n.4, p.974-978, 2007.

VILLARREAL, L.Y.B., SANDRI, T.L., SOUZA, S.P., RICHTZENHAIN, L.J., WIT, J.J., BRANDÃO, P.E. Molecular Epidemiology of Avian Infectious Bronchitis in Brazil from 2007 to 2008 in Breeders, Broilers, and Layers. **Avian Diseases**. v.54, p.894-898, 2010.



## **ÍNDICE DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *SALMONELLA SPP.* ISOLADAS DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL UTILIZADAS NA ALIMENTAÇÃO DE AVES**

<sup>1</sup>Benito Guimarães de Brito, <sup>2</sup>Tiela Trapp Grassotti,  
<sup>3</sup>Fabrine Finkler, <sup>1</sup>Kelly Cristina Tagliari de Brito

<sup>1</sup> Pesquisador IPVDF - FEPAGRO, Estrada do Conde 6000, 92990-000,  
Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Bolsista PROBIT-FAPERGS, Estrada do Conde 6000, 92990-000,  
Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul

<sup>3</sup> Bolsista CNPq, Estrada do Conde 6000, 92990-000, Eldorado do Sul, Rio  
Grande do Sul

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência antimicrobiana das amostras de *Salmonella spp.* isoladas de farinhas de origem animal. No IPVDF – FEPAGRO foram avaliadas 123 amostras de *Salmonella spp.*, isoladas no período de 2007 a 2009, de farinhas de origem animal utilizadas na produção de rações para uso animal. Para avaliar a resistência aos agentes antimicrobianos, as amostras foram cultivadas em BHI, a 37°C *overnight*. As amostras foram diluídas em solução salina 0,1% até ser atingida a concentração de 0,5 na escala McFarland. Os testes de resistência aos antimicrobianos foram realizados através da técnica de discos de papel de filtro impregnados com drogas (NCCLS - 2005). O diâmetro do halo de inibição de crescimento foi analisado e as amostras foram classificadas de acordo com o NCCLS de 2005. Para confirmação da eficácia dos discos, foi realizada a análise dos mesmos sob uma bactéria sensível a todos os antimicrobianos, a cepa ATCC25922. As amostras foram avaliadas quanto à resistência aos seguintes antimicrobianos: ciprofloxacina 5µg, enrofloxacin 5µg, florfenicol 30µg, gentamicina 10µg, ácido nalidíxico 30µg, neomicina 30µg, nitrofurantoina 300µg, sulfonamida 300µg, sulfazotrim 25µg, tetraciclina 30µg, ampicilina 10µg, cloranfenicol 30µg e norfloxacin 10µg. As análises das 123 amostras de *Salmonella spp.* provenientes de farinhas de origem animal revelaram que 36% das amostras de *Salmonella spp.*

apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano. As amostras apresentaram os maiores índices de resistência a tetraciclina (18%), ácido nalidíxico (14%) e sulfonamidas (13%), respectivamente. Nenhuma amostra apresentou resistência aos seguintes antimicrobianos: neomicina, nitrofurantoína e cloranfenicol.

**Palavras-Chave:** antimicrobianos, salmonelose, aves.

## INTRODUÇÃO

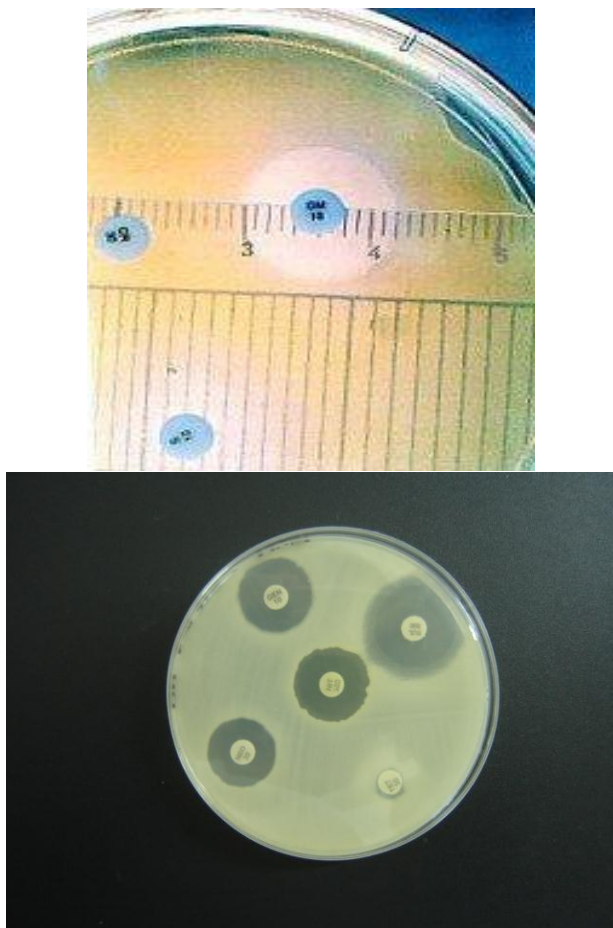
A farinha proveniente de origem animal é um ingrediente de alto teor proteico, sais minerais e vitaminas. Por seu elevado valor nutricional, ela é utilizada na alimentação dos animais. Entre as diversas formas de veiculação de patógenos na cadeia avícola, destaca-se a contaminação de farinhas (COSTA et al, 2008; CERUTTI, 2009). Esse alimento pode veicular importantes patógenos ao plantel, que podem ser a causa de diminuição dos índices zootécnicos e de problemas de ordem sanitária, que culminam na instalação de patologias que podem gerar consideráveis perdas econômicas a esse sistema de produção. Além disso, amostras de rações e farinhas animais contaminadas podem veicular patógenos ao homem, através das doenças transmitidas por alimentos, como a salmonelose (REVOLLEDO e FERREIRA, 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência antimicrobiana das amostras de *Salmonella spp.* isoladas de farinhas de origem animal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Saúde das Aves do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF) da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul (FEPAGRO). Foram avaliadas 123 amostras de *Salmonella spp.*, isoladas no período de 2007 a 2009, de farinhas de origem animal utilizadas na produção de rações para uso animal.

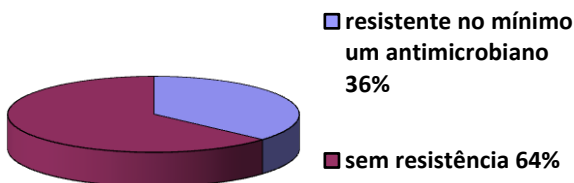
Para avaliar a resistência aos agentes antimicrobianos, as amostras foram cultivadas em BHI (*Brain Hert Infusion*), a 37°C *over-night*. As amostras foram diluídas em solução salina 0,1% até ser atingida a concentração de 0,5 na escala McFarland. Em seguida, procedeu-se a testes de sensibilidade e de resistência aos agentes antimicrobianos, utilizando a técnica de discos de papel de filtro impregnados com drogas, conforme descrito no protocolo NCCLS (2005): em placas de ágar Mueller-Hinton, foram espalhados uniformemente 100 microlitros da cultura, com o auxílio de suabes. Os discos contendo os antimicrobianos foram colocados sobre a placa, respeitando a distância de 24 mm entre os centros dos discos e pressionando-os ligeiramente para fixá-los. Cada placa recebeu cinco discos de antimicrobianos distribuídos uniformemente; obedecendo locais predeterminados de modo que não houvesse zonas de sobreposição dos halos de inibição do crescimento. Estas placas foram incubadas aerobicamente, invertidas, a 37°C durante 18 a 24h. O diâmetro dos halos de inibição de crescimento foram analisados (Figura 1), e as amostras foram classificadas de acordo com o National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005). Para confirmação da eficácia dos discos, foi realizada a análise dos mesmos sob uma bactéria sensível a todos os antimicrobianos, a cepa ATCC25922. As amostras foram avaliadas quanto à resistência aos seguintes antimicrobianos: ciprofloxacina 5µg, enrofloxacin 5µg, florfenicol 30µg, gentamicina 10µg, ácido nalidíxico 30µg, neomicina 30µg, nitrofurantoina 300µg, sulfonamida 300µg, sulfazotrim 25µg, tetraciclina 30µg, ampicilina 10µg, cloranfenicol 30µg e norfloxacina 10µg.



**Figura 1.** Análise dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento

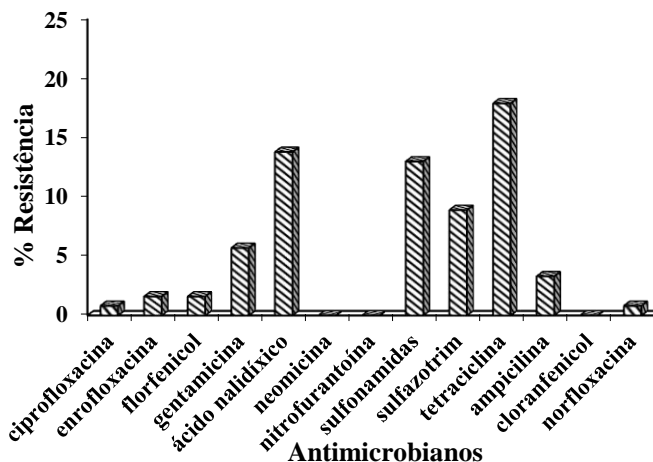
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises das 123 amostras de *Salmonella spp.* provenientes de farinhas de origem animal revelaram que 36% das amostras de *Salmonella spp.* apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano (Figura 2).



**Figura 2.** Porcentagem de resistência a antimicrobianos de cepas de *Salmonella spp.* isoladas de farinhas de origem animal

As amostras apresentaram os maiores índices de resistência a tetraciclina (18%), ácido nalidíxico (14%) e sulfonamidas (13%), respectivamente. Nenhuma amostra apresentou resistência aos seguintes antimicrobianos: neomicina, nitrofurantoína e cloranfenicol. Este estudo mostrou principalmente a resistência à tetraciclina, ácido nalidíxico e sulfonamidas. A variabilidade da resistência antimicrobiana encontrada entre as amostras, neste estudo, pode complicar a terapia microbiana, causando problemas de saúde para os animais e seres humanos.



**Figura 3.** Porcentagem de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de *Salmonella spp.* isoladas de farinhas de origem animal

## REFERÊNCIAS

CERUTTI, M. Programa de qualidade higiênica na produção avícola. In: REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A. J. P. **Patologia Aviária**. 1ª ed. Barueri: Manoele, 2009.

COSTA, D.P.S., et al. Aproveitamento de vísceras não comestíveis de aves para elaboração de farinha de carne. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v. 28, n.3, p. 746-752, jul.-set., 2008.

NCCLS, Organização Pan-Americana da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15 Suplemento Informativo. M100-S15, v. 25, n.1, 2005.

REVOLLEDO, L. e FERREIRA, A.J.P. **Patologia aviária**. 1ª ed. Barueri: Manole, 2009.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, FAPERGS e FINEP pelo apoio financeiro.

## **ÍNDICE DE RESISTÊNCIA MÚLTIPLA ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADA DE FEZES E DE FRANGOS DE CORTE**

<sup>1</sup>Kelly Cristina Tagliari de Brito, <sup>2</sup>Tiela Trapp Grassotti,  
<sup>3</sup>Fabrine Finkler, <sup>1</sup>Benito Guimarães de Brito

<sup>1</sup> Pesquisador IPVDF - FEPAGRO, Estrada do Conde 6000, 92990-000,  
Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Bolsista PROBIT-FAPERGS, Estrada do Conde 6000, 92990-000,  
Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul

<sup>3</sup> Bolsista CNPq, Estrada do Conde 6000, 92990-000, Eldorado do Sul, Rio  
Grande do Sul

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi verificar a resistência a antimicrobianos de cepas de *E. coli* provenientes de celulite e colissepticemia aviária, comparadas com amostras fecais de cama de frango. Foram avaliadas 110 amostras de *E. coli* isoladas de fezes de cama de frango em 2012 e 168 cepas isoladas de colibacilose (aves com sintomas respiratórios) e lesões de celulite aviária, no período de 2006 a 2012. As cepas de *E. coli* foram testadas utilizando a técnica de discos de papel de filtro impregnados com drogas: ciprofloxacina 5µg, enrofloxacin 5µg, florfenicol 30µg, gentamicina 10µg, ácido nalidíxico 30µg, neomicina 30µg, nitrofurantoína 300µg, sulfonamidas 300µg, sulfazotrim 25µg, tetraciclina 30µg, ampicilina 10µg, cloranfenicol 30µg, norfloxacina 10µg e doxiciclina 30µg. A partir do comportamento de resistência bacteriana foi estabelecido o nível de resistência aos antimicrobianos (IRMA) para cada amostra, o qual foi obtido através da seguinte fórmula: número de resistência antimicrobiana dividido pelo número total de drogas testadas. A análise das 110 cepas de *E. coli* a partir do ambiente revelou uma percentagem elevada de resistência antimicrobiana a NAL, TET e SUL (83%, 83% e 76%, respectivamente) e em amostras de colibacilose 75%, 56% e 53%, respectivamente. Neste estudo, todas as amostras mostraram resistência a pelo menos um fármaco testado. A IRMA média foi de

0,4 para *E. coli* isolada de amostras fecais e 0,31 de colibacilose. As amostras foram resistentes a diversos agentes antimicrobianos destacando a quinolona em que a resistência ao ácido nalidíxico foi acima de 70% em ambos os grupos de amostras.

**Palavras-Chave:** *Escherichia coli*, antimicrobianos, aves.

## INTRODUÇÃO

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. É um microrganismo presente na microbiota normal de aves e mamíferos, sendo apenas as amostras patogênicas (APEC) causadoras de doenças.

A colibacilose é o termo empregado para designar as infecções causadas pela *E. coli* nos animais. É uma patologia responsável por grandes danos na avicultura, sendo o seu controle cada vez mais difícil, devido ao aumento de cepas multirresistentes resultantes do uso indiscriminado de agentes antimicrobianos (KNEZEVIC e PETROVIC, 2008; FERREIRA e KNÖBL, 2009; FERREIRA et al, 2009).

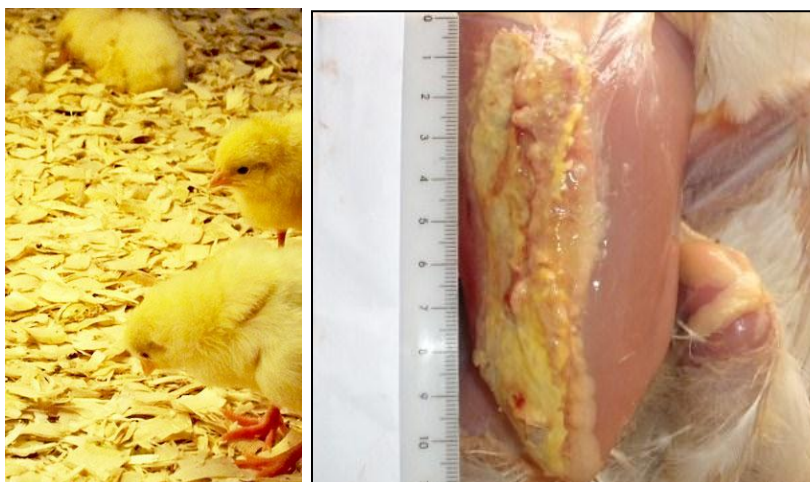
As lesões de pele em frangos de corte são consideradas um importante problema na avicultura mundial, sendo a dermatite necrótica, conhecida como celulite aviária, avaliada como a principal causa de condenação de carcaças nos abatedouros. A *E. coli* foi descrita por diversos pesquisadores como o principal agente etiológico da celulite aviária (BRITO et al, 2003; FERREIRA e KNÖBL, 2009; FERREIRA et al, 2009). No Brasil, pesquisadores verificaram que a celulite é responsável por prejuízos de dez milhões de dólares por ano na avicultura (BRITO et al, 2003).

O objetivo deste trabalho foi estabelecer um panorama da resistência a diversos antimicrobianos de cepas de *E. coli* originárias de quadros de colissepticemia e celulite aviária, traçando um comparativo com amostras fecais isoladas de cama de aviários.



## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Saúde das Aves do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF) da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul (FEPAGRO). Foram avaliadas 110 amostras de *E. coli* oriundas das fezes das camas dos aviários (Figura 1A), no ano de 2012 e 168 amostras originárias de colibacilose (isoladas de aves com sintomatologia respiratória) e de lesões de celulite aviária (Figura 1B) no período de 2006 a 2012.



**Figura 1.** A: Cama de aviário; B: Lesões de celulite aviária

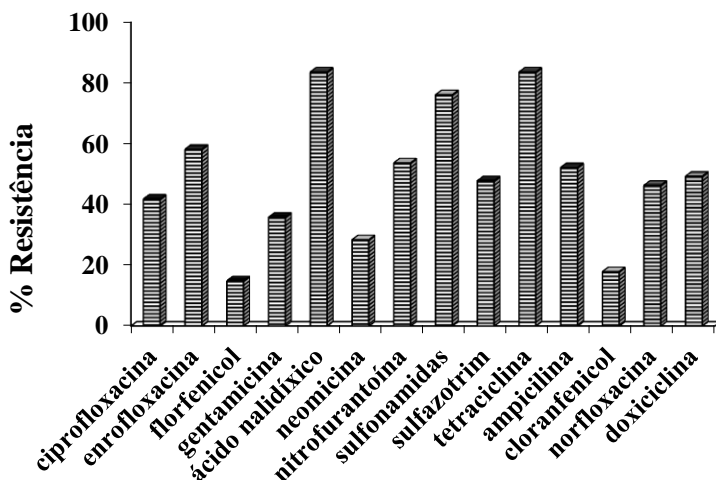
As amostras das cepas de *E. coli* foram submetidas a testes de sensibilidade a antimicrobianos, através da técnica de discos de papel filtro impregnados com diferentes drogas, de acordo com o National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005). Cada amostra foi cultivada em caldo Brain Heart Infusion (BHI) a  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , durante 18 a 24h. A cultura foi diluída em solução salina 0,1% até atingir a concentração equivalente da escala padrão 0,5 de McFarland. A cultura foi distribuída uniformemente, com suabe estéril, sobre a superfície do Ágar Müller-Hinton, de forma a obter uma multiplicação bacteriana

homogênea. Os discos contendo os antimicrobianos em concentrações conhecidas foram colocados no ágar respeitando-se a distância de 24 mm entre seus centros e pressionando-os levemente para fixá-los. Cada placa recebeu cinco discos de antimicrobianos distribuídos uniformemente, obedecendo às distâncias previamente determinadas para que não houvesse sobreposição de halos. Essas placas foram incubadas em aerobiose a 37°C, invertidas, durante 18 a 24h. Os diâmetros dos halos de inibição de crescimento foram analisados e as amostras foram classificadas de acordo com o National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005). Para a confirmação da eficácia dos antimicrobianos impregnados nos discos, foi realizada a análise dos mesmos com uma cultura bacteriana sensível a todos os antimicrobianos, a cepa ATCC25922. Foi estabelecido um panorama de resistência/sensibilidade de diversas cepas de *E. coli* a diversos antimicrobianos. As amostras foram avaliadas quanto à sensibilidade aos seguintes antimicrobianos: ciprofloxacina 5 µg (CIP), enrofloxacin 5µg (ENO), florfenicol 30µg (FLF), gentamicina 10µg (GEN), ácido nalidíxico 30µg (NAL), neomicina 30µg (NEO), nitrofurantoina 300µg (NIT), sulfonamidas 300µg (SUL), sulfazotrim 25µg (SZT), tetraciclina 30µg (TET), ampicilina 10µg (AMP), cloranfenicol 30µg (CLO), norfloxacina 10µg (NOR) e doxiciclina 30µg (DOX). Foi estabelecido o índice de resistência múltipla a antimicrobianos (IRMA) para cada amostra, através da seguinte fórmula: número total de antimicrobianos para o qual a amostra apresentou resistência dividido pelo número de antimicrobianos testados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das 110 cepas bacterianas de *E. coli* provenientes do ambiente (fezes das camas de aviário) revelou um elevado percentual de resistência a antimicrobianos para NAL, TET e SUL (83%, 83% e 76%, respectivamente) e nas amostras provenientes de colibacilose (168 cepas de *E. coli*) de 75%, 56% e 53%, respectivamente (Figuras 2 e 3). Neste estudo, todas as amostras apresentaram resistência a pelo menos uma droga testada. O IRMA apresentou valor médio de 0,4 para amostras fecais e 0,31 para amostras de colibacilose. Esses resultados corroboram com a

literatura (FERREIRA e KNÖBL, 2009), onde é relatado que algumas cepas bacterianas estão desenvolvendo multirresistência às drogas antimicrobianas devido ao uso indiscriminado, a concentrações e a indicações inadequadas dos produtos. As amostras apresentaram resistência variada aos antimicrobianos utilizados com destaque ao grupo das quinolonas onde a resistência ao ácido nalidíxico foi superior a 70% em ambos os grupos de amostras avaliadas.

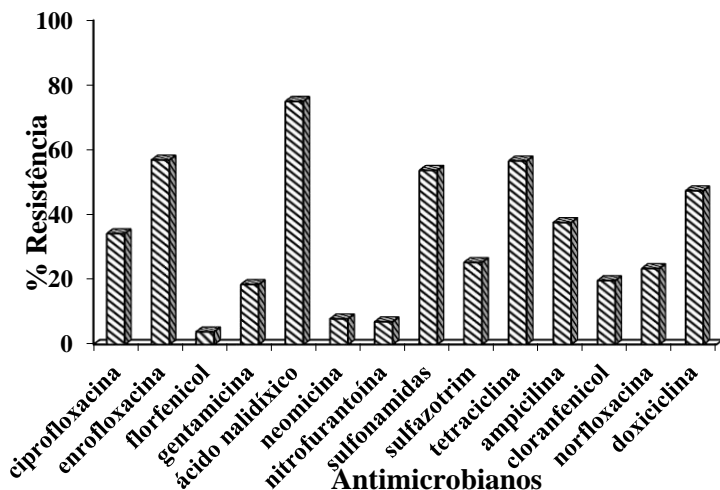


### Antimicrobianos

**Figura 2.** Porcentagem de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* isoladas de fezes de cama de aviário

### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, FAPERGS e FINEP pelo apoio financeiro.



**Figura 3.** Porcentagem de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* isoladas de colibacilose aviária

## REFERÊNCIAS

- BRITO, B.G. et al. Virulence factors and clonal relationships among *E. coli* strains isolated from broiler chickens with cellulitis. **Infec Immunity**, v.71, n.7, p.4175-4177, 2003.
- FERREIRA, A. J. P. e KNÖBL, T. Colibacilose Aviária. In: JUNIOR, A. B. e MACARI, M. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA, 2009. p. 196-208.
- FERREIRA, A.J.P; REVOLLEDO, L.; FERREIRA, C.S.A. Colibacilose. In: REVOLLEDO, L. e FERREIRA, A.J.P. **Patologia aviária**. 1ª ed. Barueri: Manole, 2009. p. 67-74.
- KNEZEVIC, P.; PETROVIC, O. Antibiotic resistance of commensal *Escherichia coli* of food-producing animals from three Vojvodinian farms, Serbia. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v.31, n.4, p. 360-363, 2008.
- NCCLS, Organização Pan-Americana da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15 Suplemento Informativo. M100-S15, v. 25, n.1, 2005.

## **EFEITO DE DOSES ELEVADAS DE FITASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CRESCIMENTO/TERMINAÇÃO SEM SUPLEMENTAÇÃO DE FÓSFORO INORGÂNICO**

<sup>1</sup>Thiago Pereira Ribeiro, <sup>5</sup>Rafael Hermes, <sup>1</sup>Ivânio José  
Martins Bueno, <sup>2</sup>Diego Surek, <sup>3</sup>Fabiano Dahlke,  
<sup>4</sup>Alex Maiorka

<sup>1</sup> Zootecnista, Mestre em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Paraná - UFPR. Email: thiago@zootecnista.com.br

<sup>2</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UFPR

<sup>3</sup> Professor Adjunto da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Depto de Zootecnia e Desenvolvimento Rural

<sup>4</sup> Professor Adjunto da Universidade Federal do Paraná – UFPR, Departamento de Zootecnia

<sup>5</sup> DSM, Nutritional Products. São Paulo-SP

**RESUMO:** Avaliou-se restrição total da suplementação de fósforo inorgânico nas fases crescimento/terminação de frangos de corte, com a suplementação da enzima fitase. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos (controle positivo; controle positivo com a retirada total de fósforo inorgânico a partir dos 21 dias de idade; controle negativo com redução de 0,15 pontos percentuais de fósforo disponível; controle negativo com 1000 FYT kg<sup>-1</sup> de fitase e controle negativo com 1000 FYT kg<sup>-1</sup> de fitase até os 21 dias e ausência do fósforo inorgânico com 4000 FYT kg<sup>-1</sup> de fitase dos 22 aos 41 dias) e nove repetições com 22 aves cada. Foram avaliados o desempenho zootécnico, os teores de resíduo mineral e fósforo da tíbia, além da viabilidade econômica aos 41 dias de idade. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Com a utilização de 4000 FYT na ração as aves mantiveram o mesmo ganho de peso e conversão alimentar (P>0,05) do controle positivo. As aves que sofreram restrição de fósforo inorgânico sem fitase na dieta geraram a pior (P<0,05)

conversão alimentar comparadas aos demais tratamentos. Teores de resíduo mineral e fósforo tibial foram maiores ( $P<0,05$ ) para as aves do controle positivo e daquelas que receberam suplementação de fitase. A utilização de 4000 FYT em dietas sem fósforo inorgânico resultou na redução de dois centavos de dólar por quilograma de peso vivo de frangos de corte em relação ao controle positivo.

**Palavras-Chave:** desempenho, enzimas exógenas, fosfato bicálcico, fósforo disponível.

## INTRODUÇÃO

O fósforo é o segundo mineral mais exigido e um dos nutrientes mais caros dentro de uma dieta para aves (SILVA et al, 2008). Sua disponibilidade em ingredientes de origem vegetal, além de outros nutrientes, é prejudicada, pois eles se encontram complexados na molécula de ácido fítico e as aves possuem quantidades insuficientes de enzimas capazes de disponibilizá-los para o metabolismo. A biodisponibilidade do fósforo destes ingredientes, como o milho, é de aproximadamente 33%. Com isso, dietas para não ruminantes são comumente suplementadas com fontes de fósforo inorgânicas (Pi) para atender suas exigências, causando aumento dos custos de produção. Além disso, grande parte do mineral não absorvido no metabolismo se encontrará presente nas excretas, gerando sérios danos ao meio ambiente.

As presenças de alguns fatores antinutricionais nos ingredientes de origem vegetal, como o ácido fítico, atuam como agravantes na alimentação de animais não ruminantes, através da redução da biodisponibilidade de vários nutrientes e, grande parte destes problemas, vem sendo estudados testando-se o fornecimento de enzimas exógenas, principalmente a fitase. Com isso, objetivou-se avaliar a restrição total da principal fonte de Pi da dieta de frangos de corte, durante o período do ciclo produtivo em que essas aves mais consomem ração (22-41 dias) por meio da suplementação de uma alta quantidade da fitase Ronozyme Hiphos®.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 990 pintos de corte machos da linhagem Ross<sup>®</sup>, criados de um a 41 dias de idade, alojados em galpão experimental com boxes de dimensões 2,25 m<sup>2</sup> submetidos às mesmas condições ambientais (24 horas de luz até os 12 dias de idade e 12 horas dos 13 até os 41 dias, ração e água a vontade). Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e nove repetições contendo 22 aves: (T1) tratamento controle positivo, seguindo as recomendações nutricionais de Rostagno et al (2011); (T2) controle positivo com a retirada total de Pi da dieta a partir dos 21 dias de idade; (T3) controle negativo utilizando a recomendação de Rostagno et al (2011) mas reduzindo-se o teor de fósforo disponível (Pd) em 0,15 pontos percentuais; (T4) é o mesmo tratamento três, porém, com a adição de 1000 FYT de fitase. O tratamento cinco (T5) é igual ao tratamento quatro até os 21 dias de idade, a partir desta idade foi utilizada a dieta controle positivo sem Pi na dieta e com a adição de 4000 FYT de fitase.

As dietas utilizadas, fornecidas na forma farelada, foram à base de milho e farelo de soja. A enzima fitase utilizada foi a Ronozyme Hiphos<sup>®</sup> (M) microgranulada, a qual possui o sítio ativo 6-phytase (E.C. 3.1.3.26) obtida por fermentação por meio de fungos *Aspergillus Oryzae*, utilizada nas quantidades de 1000 e 4000 FYT/kg de ração.

Foram utilizadas quatro dietas (pré-inicial: 1 a 7 dias; inicial: 8 a 21 dias; crescimento 22 a 35 dias e final: 36 a 41 dias), onde se avaliou o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e o índice de conversão alimentar (CA) no período de um a 41 dias de idade. Ao final do experimento, duas aves por repetição foram eutanaziadas por deslocamento cervical e a tíbia esquerda foi removida para mensurar os teores de resíduo mineral (RM) e fósforo no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Paraná. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando houve diferença significativa, as médias foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de significância. Ao final do experimento foi realizada a análise econômica do estudo, pela relação entre os custos em dólar com as dietas por quilograma de GP das aves.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de desempenho zootécnico e características ósseas das aves encontram-se na Tabela 1. Houve diferença ( $P < 0,05$ ) em todas as variáveis avaliadas com exceção ao CR ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 1.** Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e Teores de Resíduo Mineral (RM) e Fósforo Tibial dos frangos avaliado aos 41 dias de idade

Tratamentos	CR (g)	GP (g)	CA	RM (%)	Fósforo (%)
T1	4458	2617 a	1,703 c	43,051 a	7,917 a
T2	4379	2452 b	1,786 a	37,901 c	7,037 b
T3	4283	2470 b	1,734 b	40,554 b	7,127 b
T4	4462	2566 ab	1,738 b	43,089 a	7,780 a
T5	4474	2602 a	1,718 bc	42,563 a	7,775 a
Probabilidade	0,0553	0,0009	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV (%)	3,46	3,75	1,15	4,75	6,85

g=gramas; %=porcentagem; CV=coeficiente de variação.

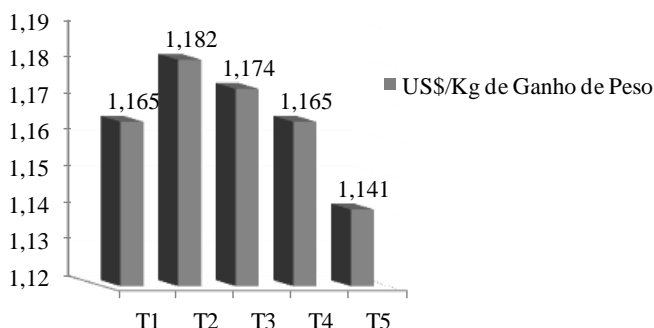
As aves que receberam as dietas com níveis reduzidos de Pd e adição de 1000 FYT da enzima (T4) não diferiram das demais para a variável GP ( $P > 0,05$ ). No entanto, o GP das aves que receberam as rações com níveis recomendados de fósforo (T1) e com alta inclusão de enzima à ração (T5) foi maior ( $P < 0,05$ ) em relação àquelas que foram submetidas à restrição de fósforo na dieta tanto no T2, quanto no T3. Com isso, observa-se que a alta suplementação de fitase pode ter minimizado os efeitos da retirada da fonte de Pi desses animais, disponibilizando fósforo aderido a molécula de ácido fítico, o que corrobora com Broz et al (1994) que encontraram melhores resultados para peso corporal, CR e teores de minerais na tíbia com frangos recebendo maiores quantidades de fitase em dietas sem fontes de fósforo não-fítico em relação a suplementações menores da enzima aos 35 dias, sugerindo que o



resultado pode ter ocorrido em função da maior quantidade de fósforo presente no plasma daquelas aves. Para CA, as aves que foram suplementadas com 1000 FYT (T4) obtiveram esta variável semelhante àquelas que foram submetidas a dietas com restrição nos níveis de Pd ( $P>0,05$ ) (T3) e inferiores aquelas que receberam as dietas com as recomendações nutricionais recomendadas ( $P<0,05$ ) (T1). No entanto, não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre a dieta com alta inclusão de enzima (T5) em relação às demais, com exceção àquelas que foram submetidas à restrição de Pi a partir dos 21 dias de idade sem suplementação de fitase (T2), as quais obtiveram a pior ( $P<0,05$ ) CA. Simons et al (1990) encontraram maior ( $P<0,05$ ) CR, GP e eficiência alimentar de frangos recebendo dietas com baixos teores de Pd e suplementadas com fitase. Os autores relataram que este efeito foi dependente do nível de fitase adicionado, o que provavelmente também pode ter ocorrido no presente estudo, uma vez que o nível de 4000 FYT da enzima manteve o CR, GP e a CA com resultados muito próximos a dieta com níveis de fósforo recomendados (T1) e a suplementação de 1000 FYT manteve o GP semelhante ao das aves que receberam as dietas com as recomendações nutricionais, mas não manteve a CA. Os teores de RM e fósforo da tíbia das aves que receberam suplementação de fitase (T4 e T5) foram semelhantes ( $P>0,05$ ) aqueles das aves que receberam as dietas seguindo as recomendações nutricionais (T1). Por outro lado, as aves que foram submetidas à restrição total de Pi (T2) tiveram a menor percentagem ( $P<0,05$ ) de RM, seguido daquelas que foram submetidas apenas a redução de 0,15 pontos percentuais de Pd (T3), e, ambos os tratamentos (T2 e T3) tiveram a menor percentagem de fósforo tibial em relação aos demais ( $P<0,05$ ). Esses resultados relativos às características ósseas podem ser devidos a menor ingestão de fósforo desses animais que foram submetidos a dietas com menores quantidades do mineral, apesar de não terem sido mensurados, uma vez que o tecido ósseo é composto principalmente por minerais, na sua maioria cálcio e fósforo (DUKES et al, 1993). A liberação de fósforo fítico pela fitase pode ter contribuído para os tratamentos dos animais que receberam suplementação atingirem patamares próximos a animais recebendo dietas com as recomendações nutricionais, além disso, aves retêm maior quantidade de fósforo no organismo quando há pouca disponibilidade do mesmo no trato (RAVINDRAN et al, 2000). Também é importante ressaltar que

normalmente respostas para parâmetros ósseos são mais sensíveis do que aquelas para desempenho zootécnico (DHANDU; ANGEL, 2003), o que talvez possa explicar o fato de as respostas para os teores de RM e fósforo tibial terem sido mais relevantes do que os de desempenho zootécnico neste estudo. Os resultados de análise econômica encontram-se no gráfico a baixo.

Representação gráfica dos custos (US\$) com as dietas por quilograma de ganho de peso dos frangos aos 41 dias de idade.



Observa-se que a com a suplementação 1000 FYT de fitase (T4) as dietas obtiveram um custo por quilograma de ganho de peso semelhante a dos animais que receberam as dietas com as recomendações nutricionais (T1), entretanto, as dietas em que foram suplementadas 4000 FYT (T5) tiveram um custo por quilograma de ganho de peso de dois centavos de dólar a menos que as dietas dos animais que receberam as recomendações nutricionais (T1).

## CONCLUSÕES

A utilização de 4000 FYT da fitase em dietas sem a suplementação de fósforo inorgânico nas fases crescimento/terminação não prejudicou o desempenho zootécnico e os teores de resíduo mineral e fósforo tibial, além de resultar na redução de dois centavos de dólar por quilograma de peso vivo de frangos de corte aos 41 dias de idade.

## REFERÊNCIAS

BROZ, J., OLDALE, P., PERRING-VOLTZ, A.H., et al. Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. *British Poultry Science*, Londres-UK, v.35, p.273-280, 1994.

DHANDU, A.S.; ANGEL, R. Broiler Nonphytin Phosphorus Requirement in the Finisher and Withdrawal Phases of a Commercial Four-Phase Feeding System. *British Poultry Science*, Londres-UK, v.82, p.1257-1265, 2003.

DUKES. *Fisiologia do Animais Domésticos*. 11ª Ed. Rio de Janeiro-RJ: Guanabara Koogan, 1993. p.470.

RAVINDRAN, V., CABAUG, S., RAVINDRAN, G., et al. Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. *British Poultry Science*, Londres-UK, v.41, p.193-200, 2000.

ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L., et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos). Viçosa-MG, 3ª Ed, 2005.

SILVA, J. H. V., ARAÚJO, J. A. GOULART, C. C., et al. Influência da interação fósforo disponível x fitase da dieta sobre o desempenho, os níveis plasmáticos de fósforo e os parâmetros ósseos de poedeiras comerciais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Brasília-DF, v.37, p.2157-2165, 2008.

SIMONS, P.C.M., et al. Improvement of Phosphorus Availability by Microbial Phytase in Broilers and Pigs. *British Journal of Nutrition*, Londres-UK, v.64, p.525-540, 1990.

## **MONITORIA SANITÁRIA EM AVES POR ELISA INDIRETO, E COMO A INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS PODE AUXILIAR NO ENSINO DE MEDICINA DE VETERINÁRIA**

<sup>1</sup>Juliana Midori Omura, <sup>1</sup>Fausto de Almeida Marinho  
Neto, <sup>1</sup>Maicon Alves Paiva dos Santos, <sup>3</sup>Marcos Augusto  
Alves da Silva, <sup>3</sup>Rogério Salvador, <sup>3</sup>Claudia Yurika  
Tamehiro

<sup>1</sup>*Graduandos de Medicina Veterinária - UENP – CLM - Bandeirantes/PR*

<sup>2</sup>*Médico veterinário graduado - UENP – CLM - Bandeirantes/PR*

<sup>3</sup>*Docentes de Medicina Veterinária na UENP CLM - Bandeirantes/PR*

**RESUMO:** A sorologia é uma das ferramentas mais úteis para estabelecer um excelente programa de medicina preventiva. Com a técnica, podem-se monitorar anticorpos maternos, o momento correto de vacinação e se houve a resposta vacinal, detecção de infecção e determinação da prevalência de doenças. A ausência de pessoas especializadas em enfermidades e diagnóstico em avicultura é grande, e a Instituições de ensino teria papel fundamental para formação de equipe de trabalhos. O trabalho tem como objetivo monitorar os anticorpos do soro e ovos de variadas enfermidades numa criação de aves caipiras, por meio de ELISA indireto. A técnica e a interpretação dos resultados seriam uma das oportunidades na formação qualificada de discentes e recém-graduados em medicina veterinária. A análise foi realizada em um aviário de galinhas caipiras, localizado na região Norte do Paraná, com um lote em torno de 150 aves de idades e sexo variados. Foram coletados sangue total e ovos dessas aves. O kit comercial de ELISA Indireto da marca ProFLOK® para Virus da Bronquite Infecciosa das Aves (IBV), Doença Infecciosa Bursal (IBD), *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) e Doença de Newcastle (DNC) foi realizado conforme as recomendações técnicas do fabricante. Foi possível observar que há anticorpos circulantes contra IBV, IBD e Mg tanto na gema quanto nos soros. E resultados negativos foram encontrados para DNC. A interpretação do monitoramento precisa

ser com responsabilidade, avaliando as condições de criações para que os resultados obtidos não assustem os proprietários desinformados e sim, sirva como alerta caso ocorram surtos de enfermidades.

**Palavras-Chave:** Sorologia, Ensaio imunoenzimático; Imunidade de aves; Soro; Gema.

## INTRODUÇÃO

Apesar do controle sanitário exercido sobre as aves criadas comercialmente, algumas doenças infecciosas continuam presentes e há ainda uma população de aves que está fora deste controle. O conhecimento da ocorrência e da distribuição das infecções virais em galinhas de terreiro, oficialmente pode ter grande utilidade para indicar a necessidade de medidas de controle e prevenção (SANTOS et al., 2008). A sorologia é uma das ferramentas mais úteis para estabelecer um excelente programa de medicina preventiva na indústria avícola. Com a técnica, podem-se monitorar anticorpos maternos, o momento correto de vacinação e, se houve a resposta vacinal, detecção de infecção e determinação da prevalência de doenças (MUÑOZ, 2005). Porém, a ausência de pessoas especializadas em enfermidades e diagnóstico em avicultura, é outro empecilho para averiguar *status* sanitário, onde as Instituições de Ensino teriam papel fundamental para formação de equipe de trabalhos. O trabalho tem como objetivo, monitorar os anticorpos nos soros e ovos, de variadas enfermidades, numa criação de aves caipiras, por meio de ensaio imunoenzimático indireto. A técnica e a interpretação dos resultados seriam uma das oportunidades na formação qualificada de discentes e recém-graduados em medicina veterinária.

## MATERIAL E MÉTODOS

A análise foi realizada em um aviário de galinhas caipiras, localizado na região Norte do Paraná, em um lote em torno de 150 aves de idade e sexo variados. Foram coletados sangue total e ovos dessas aves. Uma etapa do exame foi realizada no Laboratório de Imunopatologia de Peixes, da Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP, *Campus* Luiz Meneghel e outra no Laboratório de Imunologia IV, da Universidade Estadual de Londrina. Antes da coleta foi feito um questionário de histórico vacinal e antecedente de enfermidades ocorridas no local. Os soros foram armazenados em freezer a -10°C e os ovos em geladeira a 4°C, até o processamento. A extração da gema foi feita com Salina e Clorofórmio, como no trabalho de Hagan et al. (2004). O kit comercial de ELISA Indireto da marca ProFLOK®, para Vírus da Bronquite Infecciosa das Aves (IBV), Doença Infecciosa Bursal (DIB), *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) e Doença de Newcastle (DNC), foram realizados conforme as recomendações técnicas do fabricante.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na anamnese da propriedade foi que, as aves nunca receberam nenhuma forma de vacina ou, que nunca foram detectadas alterações respiratórias, digestórias, reprodutivas ou de imunossupressão. No entanto, no monitoramento para as quatro enfermidades, os resultados tanto da gema quanto do soro, foram negativos para Doença de Newcastle (DNC). Houve uma variação de resultados positivos ou na gema ou no soro para Vírus da Bronquite Infecciosa das Aves (IBV), Doença Infecciosa Bursal (IBD) e *Mycoplasma gallisepticum*. Os testes sorológicos de lotes é uma estratégia que pode ser utilizada para determinar o número de aves positivas a enfermidades e também se os níveis de imunidade das aves são considerados protetores (BRENTANO et al., 2000). Como forma de visualizar o plantel de aves caipiras não vacinadas, os resultados podem ser interpretados como anticorpos de contato, uma vez que não há sinais ou sintomas característicos para enfermidades testadas. Na avaliação feita no presente trabalho foram positivos para IBV em 73% na gema e 80% no soro; IBD em 46% na gema e 45% no soro; Mg em 64% na gema e 45% no soro.

No trabalho de Santos et al. (2008) foram testados soros de galinhas de fundo de quintal, para a presença de anticorpos contra o Vírus da Bronquite Infecciosa das Aves (IBV), Reovírus Aviário (ARV) e o Vírus da Doença Infecciosa Bursal (IBD), pela técnica de soroneutralização. Anticorpos contra IBV foram detectados em 65% (564/867) das amostras, contra ARV em 21,6% (187/867) e contra IBD em 80,2% (695/867) das aves. Conforme os resultados obtidos no presente trabalho, há necessidade de novas monitorias por meio de gema e soros em criações de fundo de quintal e também em aves comerciais próximas as essas criações monitoradas, com histórico ou não de vacinas, contras as enfermidades de IBV, IBD e DNC em frangos de corte, postura e matrizes e inclusive o Mg em postura comercial.

## CONCLUSÃO

Foi possível observar que há anticorpos circulantes contra Vírus da Bronquite Infecciosa das Aves (IBV), Doença Infecciosa Bursal (IBD) e *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) tanto na gema quanto nos soros. E resultados negativos foram encontradas para Doença de Newcastle (DNC), pela técnica de ELISA indireto. A interpretação do monitoramento precisa ser com responsabilidade, avaliando as condições de criação como, manejo nutricional e sanitário, para que os resultados obtidos não assustem os proprietários desinformados e sim, sirva como educação e alerta caso ocorram surtos de enfermidades, com ou sem sinais clínicos e sintomas.

## REFERÊNCIAS

- BRENTANO, L. et al. Anticorpos para o vírus da anemia das galinhas (CAV) em matrizes de corte no Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.2, n.2, p.163-175, 2000.
- HAGAN, J.C.; ASHTON, N.J.; BRADBURY, J.N.; MORGAN, K.L. Evaluation off an egg enzyme-linked immunosorbent assay antibody test and its use to assess the prevalence of *Mycoplasma synoviae* in UK laying hens. *Avian Pathology*, v.33, n.1, p.93-97, 2004.

MUÑOZ, R. Sorologia como ferramenta para monitoria sorológica. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. *Anais...*Campinas: FACTA, 2005. p.95-106.

SANTOS, H.F. et al. Anticorpos contra vírus em galinhas de terreiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v.38, n.7, p.1932-1937, out. 2008.

### **AGRADECIMENTOS**

À empresa SUIAVES e a toda equipe técnica, pelo fornecimento dos kits de ELISA teste marca ProFLOK®. Ao prof. Dr. Emerson José Venâncio responsável pelo Laboratório de Imunologia IV, da Universidade Estadual de Londrina. Aos Médicos Veterinários Silas Fernandes Eto e João Francisco Dornellas de Oliveira e às estudantes de Medicina Veterinária Dayanne Carla Fernandes e Isabela Mancini Martins, pela colaboração no trabalho.



## **EFICIÊNCIA DA LAVAGEM NA REDUÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS EM CARCAÇAS DE FRANGOS CONTAMINADAS COM MATERIAL FECAL**

<sup>1</sup>Rodrigo Guilherme Backes, <sup>2</sup>Lenita Moura Stefani,

<sup>1</sup>Juliana Maria de Almeida, <sup>3</sup>Cláudia Pies Biffi,

<sup>4</sup>Anaiara Langaro, <sup>1</sup>Gabriella Bassi das Neves

<sup>1</sup> Mestrando em Ciência Animal, CAV/UDESC

<sup>2</sup> PhD em Sanidade avícola, professora Adjunta CEO-CAV/UDESC

<sup>3</sup> Doutoranda em Ciência Animal CAV/UDESC, professora colaboradora  
CAV/UDESC

<sup>4</sup> Graduanda em Zootecnia, CEO/UDESC

**RESUMO:** Recentemente foi aprovada a resolução nº 4 de outubro de 2011 que autoriza a lavagem das carcaças contaminadas com material fecal, porém é necessário investigar se há redução da contagem de bactérias nocivas a saúde humana. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência da lavagem na redução de contagem de coliformes totais. Foram coletadas 25 carcaças, divididas em 5 grupos (com contaminação visível, sem contaminação aparente, contaminada lavada, contaminada refilada e contaminada lavada e refilada). As carcaças passaram por enxágue com água peptonada, dessa água foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-5}$ . As amostras foram semeadas em placas de petri contendo Eosina Azul de Metileno e cultivadas a 37 °C por 24 horas, ao final do período foi realizado a contagem das colônias, e os resultados submetidos ao teste de tukey ( $p \leq 0,05$ ). O grupo lavado apresentou as menores contagens para coliformes totais (6,67 log UFC/g), já os grupos, lavado e refilado, com contaminação e sem contaminação aparente tiveram contagens maiores que o grupo lavado, porém contagens menores que o grupo refilado (6,00 log UFC/g). Foi observada diferença estatística entre o grupo lavado e o grupo refilado, sendo que a diferença matemática foi de 1,33 log UFC/g, demonstrando que para redução de coliformes totais o uso do processo de lavagem com água foi mais eficiente que o refile. Estes resultados divergem dos encontrados na literatura que afirmam não haver

diferença entre ambos os processos de descontaminação. Conclui-se que nas condições deste trabalho a utilização de lavagem foi eficiente na redução de coliformes totais.

**Palavras-chave:** Descontaminação, Refile, EMB, Lavagem

## INTRODUÇÃO

No abate e processamento de aves, muitas são as perdas para a indústria, dentre essas perdas, a contaminação de carcaças no momento da evisceração é um das mais relevantes. Essa perda resulta do que está descrito na portaria do MAPA/RIISPOA nº 210 de novembro de 1998, a qual salienta que as carcaças não podem entrar na linha de cortes e pré-resfriamento com qualquer contaminação visível interna ou externa (BRASIL, 1998). É prática rotineira na indústria frigorífica o corte com faca (refile) das partes visivelmente contaminadas por conteúdo fecal. Recentemente foi aprovada a Resolução DIPOA nº 4 de outubro de 2011 que autoriza a lavagem dessas carcaças contaminadas com material fecal utilizando água potável (BRASIL, 2011). Desta forma, há necessidade de investigar se a lavagem reduz a contagem de bactérias nocivas à saúde humana. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência da lavagem na redução de contagem de coliformes totais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 25 carcaças, divididas em 5 grupos de acordo com as especificações da pesquisa, grupo CC (com contaminação visível), grupo SCA (sem contaminação aparente), grupo CL (carcaça contaminada e lavada), grupo CCR (contaminada refilada) e o último grupo CLR (com contaminação lavada e refilada).

As carcaças foram enxaguadas por um minuto com água peptonada, durante este enxágue foi massageado a carcaça para retirada da contaminação presente na pele. Da água do enxágue foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-5}$ . Um mL das diluições  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  foram semeados em placas de petri contendo Eosina Azul de Metileno e cultivados a 37 °C por 24 horas, ao final do período foi realizado a contagem das colônias, e os resultados

submetidos ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) sendo expressos em  $\log_{10}$  UFC/g.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo lavado apresentou as menores contagens para coliformes totais (6,67 log UFC/g), já os grupos, lavado e refilado, com contaminação e sem contaminação aparente tiveram contagens maiores que o grupo lavado, porém contagens menores que o grupo refilado (6,00 log UFC/g). Foi observada diferença estatística entre o grupo lavado e o grupo refilado, sendo que a diferença matemática foi de 1,33 log UFC/g, demonstrando que para redução de coliformes totais o uso do processo de lavagem com água foi mais eficiente que a retirada da contaminação com faca (ver Tab. 1) A lavagem é considerada uma intervenção que colabora com os programas de APPCC, e desta forma, é uma prática que pode ser implementada nos frigoríficos (BUNCIC E SOFOS, 2012).

**Tabela 5.** Médias e Desvio Padrão (DV) das contagens de coliformes totais em cada grupo avaliado

Grupo	MÉDIA* ( $\pm$ DV)
CL	4,67 ( $\pm 0,32$ ) <sup>a</sup>
CLR	5,14 ( $\pm 0,60$ ) <sup>ab</sup>
CC	5,33 ( $\pm 1,01$ ) <sup>ab</sup>
SCA	5,33 ( $\pm 0,42$ ) <sup>ab</sup>
CCR	6,00 ( $\pm 0,38$ ) <sup>b</sup>

---

Médias e desvio padrão dados em  $\log_{10}$  UFC/g.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os resultados corroboram com os descritos na literatura. Smith et al., (2005) verificaram redução significativa de coliformes totais em carcaças contaminadas propositalmente com material fecal, porém essa redução foi matematicamente menor que a encontrada neste trabalho, tendo redução de apenas 0,2 log UFC/g,

enquanto que nesta pesquisa encontramos redução de 0,66 log UFC/g, ainda sem diferença significativa. Resultado semelhante foi obtido por Fletcher et al., (1997), onde os autores verificaram redução na contagem de coliformes totais após o processo de lavagem das carcaças condenadas por contaminação fecal pelo sistema de inspeção norte americano.

Nas condições deste trabalho conclui-se que a utilização de lavagem foi eficiente na redução de coliformes totais das carcaças contaminadas com material fecal. Já o refil não apresentou eficiência na redução da contagem de coliformes totais.

### REFERÊNCIAS

BRASIL. Resolução DIPOA nº 4, de 4 de outubro de 2011. Autoriza o emprego do sistema de lavagem de carcaças no abate de aves. **Diário Oficial da União**, Seção 1, nº 206, p.3, 2011.

BRASIL. Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 226, 1998.

BUNCIC, S.; SOFOS, J. Interventions to control Salmonella contamination during poultry, cattle and pig slaughter. **Food Research International**, v. 45, p.641-655, 2012.

FLETCHER, D.L.; CRAIG, E.W.; ARNOLD, J.W. An evaluation of on-line "reprocessing" on visual contamination and microbiological quality of broiler. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, p.436-442, 1997.

SMITH, D.P.; NORTHCUTT, J.K.; MUSGROVE, M.T. Microbiology of contaminated or visibly clean broiler carcass processed with an Inside-Outside Bird Washer. **Journal of Poultry Science**, v.4, n.12, p.955-958, 2005.

## **REDUÇÃO DA CONTAGEM DE MESÓFILOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO ATRAVÉS DO MÉTODO DA LAVAGEM**

<sup>1</sup>Rodrigo Guilherme Backes, <sup>2</sup>Lenita Moura Stefani,  
<sup>1</sup>Juliana Maria de Almeida, <sup>3</sup>Cláudia Pies Biffi, <sup>4</sup>Helen  
Krystine Silva, <sup>1</sup>Gabriella Bassi das Neves

<sup>1</sup> Mestrando em Ciência Animal, CAV/UDESC

<sup>2</sup> PhD em Sanidade avícola, professora Adjunta CEO/CAV - UDESC

<sup>3</sup> Doutoranda em Ciência Animal CAV/UDESC, professora colaboradora  
CAV/UDESC

<sup>4</sup> Graduanda em Zootecnia, CEO/UDESC

**RESUMO:** Atualmente no Brasil é adotado o sistema de reprocessamento das carcaças de frango com a retirada de visível contaminação com faca, processo chamado de refil. Recentemente foi autorizada a lavagem com água pura pelo DIPOA através da resolução nº4 de outubro de 2011. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de duas metodologias de descontaminação de carcaças na etapa pós-evisceração. Foram avaliadas 20 carcaças em cada grupo (com contaminação, sem contaminação aparente, contaminado/lavado, contaminado/refilado e contaminado/lavado/refilado). As carcaças foram pesadas e submetidas a enxágue com água peptonada, da qual foram feitas diluições seriadas até  $10^{-7}$ . Foi pipetado um mL de três diluições, para placas de petri adicionando em ágar para contagem em placas, as quais foram cultivadas a 37 °C por 24 a 48 horas. Os resultados foram submetidos ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Não foi observada diferença estatística entre os grupos ( $p \leq 0,05$ ). Neste trabalho o grupo sem contaminação aparente obteve a menor contagem de mesófilos aeróbios, seguido do grupo das carcaças lavadas. O grupo contaminado/lavado/refilado e o grupo apenas refilado tiveram contagens superiores que aos grupos anteriores, já as carcaças com contaminação apresentaram a maior contagem. A diferença matemática entre os grupos, lavado e com contaminação foi de 0,42 log UFC/g representando uma redução consideravelmente maior que a redução obtida nas carcaças apenas refiladas que foi de 0,14 log

UFC/g. Apesar de não ser encontrada diferença estatística, a lavagem se mostrou numericamente mais eficiente na redução da contagem de mesófilos aeróbios em comparação com o refilê.

**Palavras-Chave:** Descontaminação, Refilê, Reprocessamento.

## INTRODUÇÃO

A contaminação de carcaças com material fecal durante o processo de evisceração é frequente. Atualmente, no Brasil, é adotado o sistema de reprocessamento dessas carcaças, retirando a contaminação com faca e mais recentemente foi autorizada a lavagem com água pura pelo DIPOA através da resolução nº4 de outubro de 2011 (BRASIL, 2011).

Alguns padrões de contagens de microrganismos são estabelecidos pela legislação, como a contagem de coliformes fecais e de *Salmonella* spp. Para mesófilos aeróbios totais, não há padrão estabelecido pela legislação. Gill (1998) analisando condições higiênicas de carcaças de frangos, concluiu que contagens de  $10^2$  a  $10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> representa uma condição higiênica satisfatória em carcaças de frango. O grupo dos mesófilos representa a contagem total de bactérias que tem seu crescimento ideal em temperatura de 20 a 37 °C (HAJDENWURCEL, 1998). O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de duas metodologias de descontaminação de carcaças na etapa pós-evisceração.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 100 carcaças oriundas de um frigorífico catarinense com inspeção federal. As amostras foram divididas em 5 grupos especificados como: CC (com contaminação visível), SCA (sem contaminação aparente), CL (carcaça contaminada e lavada), CCR (contaminada refilada) e CLR (com contaminação lavada e refilada). Ainda no frigorífico as carcaças foram enxaguadas por um minuto com água peptonada. Durante este enxágue a carcaça foi massageada vigorosamente por 1 minuto manualmente para retirada da contaminação presente na pele. Da água do enxágue foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-7}$ . Um mL das diluições  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$  foram pipetados para placas de petri, em seguida

foram adicionados 15 mL de ágar para contagem em placas (PCA), as quais foram cultivadas a 37 °C por 24 horas, ao final do período foi realizada a contagem das colônias, e os resultados submetidos ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) sendo expressos em  $\log_{10}$  UFC/g.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada diferença estatística entre os grupos ( $p \leq 0,05$ ). Neste trabalho o grupo sem contaminação aparente obteve a menor contagem de mesófilos aeróbios, seguido do grupo das carcaças lavadas. Observamos que nos três grupos CL, CCR, CLR houve redução na contagem, sendo que para CL reduziu 0,40 log UFC/g, para CLR reduziu 0,19 log UFC/g e para CCR reduziu 0,14 log UFC/g. Esses valores são maiores que os do grupo sem contaminação aparente (SCA). Já as carcaças com contaminação (CC) apresentaram a maior contagem, o que evidencia que a contaminação visível está relacionada a contaminação microbiológica.

**Tabela 1.** Médias e desvio padrão ( $\pm$ DV) para contagem de mesófilos aeróbios

Grupos	Mesófilos ( $\pm$ DV)
<b>SCA</b>	4,93 ( $\pm$ 1,13)
<b>CL</b>	4,95 ( $\pm$ 1,35)
<b>CLR</b>	5,16 ( $\pm$ 1,52)
<b>CCR</b>	5,21 ( $\pm$ 1,21)
<b>CC</b>	5,35 ( $\pm$ 1,13)

---

Médias e desvio padrão dados em  $\log_{10}$  UFC/g.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A diferença matemática entre os grupos, lavado e com contaminação foi de 0,42 log UFC/g representando uma redução consideravelmente maior que a redução obtida nas carcaças apenas refiladas que foi de 0,14 log UFC/g. Apesar de não ser encontrada diferença estatística, a lavagem se mostrou numericamente mais eficiente na redução da contagem de mesófilos aeróbios em comparação com o refile. Fletcher, Craig e Arnold (1997) afirmam

que o processo de lavagem é eficiente na remoção da contaminação visível e microbiológica.

A contagem maior no grupo CCR pode estar relacionada a contaminação cruzada, porém em relação ao grupo CC o refil indicou uma pequena redução, isso pode estar relacionado a retirada da pele contendo bactérias oriundas da granja, o que possibilita a redução no número total de bactérias presentes na carcaça. Segundo Powell et al. (1995) carcaças contaminadas apresentam maiores contagens de mesófilos comparados a carcaças não contaminadas, da mesma forma o reprocessamento torna as carcaças com contaminação indistinguíveis das sem contaminação aparente (POWELL et al., 1995). Assim, tanto o refil como a lavagem das carcaças foi eficiente na redução de mesófilos aeróbios, apesar de não apresentar diferença estatística, matematicamente houve redução.

Conclui-se, de acordo com as limitações deste projeto que a lavagem foi eficiente na redução de mesófilos aeróbios, observando-se que a redução foi maior do que no grupo refilado.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL. Resolução DIPOA nº 4, de 4 de outubro de 2011. Autoriza o emprego do sistema de lavagem de carcaças no abate de aves. **Diário Oficial da União**, Seção 1, nº 206, p.3, 2011.
- FLETCHER, D.L.; CRAIG, E.W.; ARNOLD, J.W. An evaluation of on-line "reprocessing" on visual contamination and microbiological quality of broiler. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, p.436-442, 1997.
- GILL, C.O. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. In: DAVIES, A. e BOARD, R. **The Microbiological of Meat and Poultry**. 15 ed. p.118-154, 1998.
- HAJDENWURCEL, J.R. **Atlas de Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Fonte, v. 1, p.54, 1998.
- POWELL, C.; GREG BLANK, G.; HYDAMAKA, A.; DZOGEN, S. Microbiological comparison of inspection-passed and reprocessed broiler carcasses. **Journal of Applied Poultry Research**, v.4, p.23-31, 1995.



## PERFIL FENOTÍPICO E GENOTÍPICO DE ISOLADOS AVÍCOLAS DE *Salmonella* Typhimurium FRENTE AO ANTIMICROBIANO CEFTIOFUR

<sup>1</sup>Claudia Pies Biffi, <sup>2</sup>Lenita Moura Stefani, <sup>3</sup>Juliana de Almeida, <sup>3</sup>Rodrigo Backes, <sup>4</sup>Helen Krystine Silva, <sup>3</sup>Gabriella Bassi das Neves

<sup>1</sup> *Doutoranda do Programa Ciência Animal - CAV/UDESC e professora colaboradora do CAV/UDESC - e-mail: claudiapiess@yahoo.com.br*

<sup>2</sup> *Professora de Sanidade Animal - CEO/UDESC e do Mestrado em Ciência Animal – CAV/UDESC*

<sup>3</sup> *Mestrandos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – CAV/UDESC*

<sup>4</sup> *Graduando de Zootecnia - CEO/UDESC*

**RESUMO:** A salmonelose é considerada uma doença comum transmitida por alimentos em humanos, representando um significativo problema em muitos países, pois muitos dos casos tiveram origem avícola, destacando assim a importância deste setor na saúde pública. Devido ao aumento na incidência de toxinfecções por *Salmonella* sp, e os relatos cada vez mais frequentes de cepas multirresistentes a antimicrobianos, torna-se necessária a investigação dos mecanismos de resistência utilizados por este microrganismo. A disseminação de genes que conferem resistência ocorre principalmente em função da utilização indiscriminada de antimicrobianos na medicina veterinária. Os objetivos deste trabalho foram a realização dos testes de antibiograma e concentração inibitória mínima (MIC) para avaliar o nível de resistência de isolados de *S. Typhimurium* ao ceftiofur, assim como a análise do perfil genotípico através da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR), onde foram pesquisados os genes AmpC e BlaCMY. Foram utilizadas 100 isolados de *Salmonella* sp de amostras de origens avícola provenientes de um laboratório privado paranaense conforme normativa do MAPA. Os isolados foram enviados para o laboratório FIOCRUZ onde foram sorotipados. Onze foram identificadas como *S. Typhimurium*, as quais foram avaliadas quanto a sua sensibilidade fenotípica e genotípica. Os resultados obtidos no

antibiograma foram de 18,1% de resistência ao ceftiofur e de 27,2% no MIC. Os resultados da PCR mostraram que todas as amostras resistentes, tanto no MIC como no antibiograma, apresentaram pelo menos um dos genes de resistência, também foram encontrados isolados sensíveis, mas que apresentavam o gene. Estes resultados indicam a necessidade de cautela na hora de decidir qual o tratamento a ser adotado, na tentativa de minimizar o aparecimento de cepas resistentes. Indicam ainda, que as cepas apresentam a informação genética necessária para tornarem-se resistentes ao antimicrobiano testado futuramente.

**Palavras-Chave:** Antimicrobiano. Avicultura. Resistência. Saúde Pública.

## INTRODUÇÃO

As salmoneloses são ocasionadas por bactérias do gênero *Salmonella*, bacilos Gram negativos, pertencentes à família das *Enterobacteriaceae* que podem ser encontradas nos mais variados ambientes. As perdas econômicas na avicultura mundial são elevadas em função das contaminações por *Salmonellas* sp (RISTOW, 2010).

Deve-se salientar que esta bactéria é um dos mais importantes agentes patogênicos de interesse em saúde pública, segundo Amson et al. (2006), em um trabalho conduzido entre 1978 a 2000 no Estado do Paraná, verificou-se que em doenças transmitidas por alimentos a *Salmonella* sp. estava presente em 33,8% dos surtos deste período. Observa-se também o aparecimento de cepas de *Salmonellas* sp. resistentes aos antimicrobianos rotineiramente utilizados, Guerra et al. (2002) verificaram que 51% das cepas analisadas eram multirresistentes, e essa resistência variava de dois a nove tipos de antimicrobianos. Alguns autores consideram como responsável direto pelo aumento na incidência de casos de cepas resistentes a antibióticos o uso de medicamentos como promotores de crescimento na ração animal (MACDONALD et al., 1987; KELLEY et al., 1998; GUERRA, et al., 2002; MOLBAK et al., 2002). Ainda segundo Threlfall (2002) a exposição continuada a antibióticos desenvolve resistência nas

cepas expostas após um determinado período de tempo. Soma-se a isso o uso de forma indiscriminada na terapêutica dos animais.

Os objetivos deste trabalho foram a realização dos testes de antibiograma e concentração inibitória mínima (MIC) para avaliar o nível de resistência de isolados de *S. Typhimurium* ao ceftiofur, assim como a análise do perfil genotípico através da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR), onde foram pesquisados os genes AmpC e BlaCMY.

## MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de diversas origens avícolas, tais como farinha de vísceras, farinha de sangue, órgãos de aves, ração, resíduo de incubatório, farinha de pena, farinha de carne e suabe de arrasto, provenientes de empresas da região sul do Brasil, foram enviadas para isolamento bacteriano em laboratório privado credenciado pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) para pesquisa de *Salmonellasp.* no Paraná. Após esta etapa, 100 isolados foram identificadas como *Salmonellasp.* e enviadas para sorotipagem em um laboratório de referência (FIOCRUZ).

Com estas amostras foram realizados testes de sensibilidade para o antimicrobiano ceftiofur, o qual é utilizado de forma rotineira pela indústria avícola brasileira. As técnicas utilizadas foram o antibiograma e a avaliação da concentração inibitória mínima (MIC), a metodologia seguiu o preconizado pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) e pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

A amplificação dos genes foi feita através da técnica de PCR. Para amplificação do DNA foram necessários oligonucleotídeos específicos que atuaram como iniciadores da reação de síntese da região alvo. Os genes responsáveis pela resistência ao ceftiofur são oBlaCMY5'-TGGCCGAAGTACAGGCAA-3'(F) e 5'-TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC-3'(R) com tamanho de 354 pares de base e o AmpC5'-AACACACTGATTGCGTCTGAC-3'(F)5'-CTGGGCCTCATCGTCAAGTA-3'(R) com tamanho de 1226 pares de base. Para a reação de amplificação foi utilizado o termociclador da

Byocicler® com as seguintes condições: 95°C por 9,5 minutos para desnaturação inicial, seguidos por 40 ciclos de 95°C por 45 segundos com temperatura de extensão de 59°C também por 45 segundos e 72°C por mais 1 minuto. A extensão final foi realizada com temperatura de 72°C por 7 minutos.

Após a amplificação o produto da PCR foi avaliado através da eletroforese em gel de agarose. Em torno de 5µl do produto amplificado foi homogeneizado com 3 µl de tampão de carregamento (azul de bromofenol) e submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5% TBE (Tris-borato-EDTA). Como padrão molecular foi utilizado marcador de 100 pares de base. A eletroforese foi realizada em cuba eletroforética com fonte, nas condições de 90 V por 60 minutos. Em seguida o gel foi corado em solução de brometo de etídeo por aproximadamente 30 minutos. Os produtos amplificados foram visualizados sob luz ultravioleta.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na sorotipagem das 100 amostras analisadas, 12 foram identificadas como *S. Typhimurium*, conforme informado pelo FIOCRUZ.

Os resultados obtidos no antibiograma foram de 18,1% de resistência ao ceftiofur e de 27,2% no MIC. Frye e Cray (2007) avaliaram isolados de *Salmonella* sp. por um período de cinco anos, observaram que a resistência ao ceftiofur passou de 4% em 1999 para 18% em 2003. Os isolados de *S. Typhimurium* foram responsáveis por 23,5% das resistências observadas, valores esses muito próximos aos encontrados neste estudo.

Já os resultados da PCR mostraram que todas as amostras resistentes, tanto no MIC como no antibiograma, apresentaram pelo menos um dos genes de resistência, também foram encontrados isolados sensíveis, mas que apresentavam o gene (Tabela 1). Nossos resultados indicam que a presença de somente um dos genes é suficiente para conferir resistência bacteriana. Com relação aos isolados sensíveis, mas que apresentam o gene, Alberts et al. (2007) comentam que só porque uma bactéria tem o gene de

resistência a um antibiótico, não significa que o gene irá se expressar.

Os resultados obtidos através da análise fenotípica e genotípica dos isolados de *S. Typhimurium* corroboram com outros autores, mostrando um crescente aumento do nível de resistência a este antimicrobiano, o que poderia ocasionar uma dificuldade ainda maior para a comunidade médica ao tratar indivíduos infectados por *S. Typhimurium*. Diante disso deve-se ter o cuidado com relação ao uso indiscriminado dos antimicrobianos como ferramenta terapêutica, pois dessa forma pode-se selecionar bactérias que tornam-se resistentes a determinados medicamentos.

**Tabela 1.** Resultados fenotípicos e genotípicos dos isolados de *S. Typhimurium*

CEFTIOFUR			
MIC	ATB	Gene AmpC	Gene BlaCMY
S	S	P	N
R	R	P	N
S	S	N	N
S	S	N	N
S	S	N	P
S	S	N	P
S	S	P	N
R	R	P	N
R	S	P	P
S	S	P	N
S	S	N	N

Legenda: S- Sensível; R- Resistente; P- Presente; N- Ausente.

## REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B. et al. Controle da Expressão Gênica. In: ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 375-466.
- AMSON, G.V. et al. Levantamento de Dados Epidemiológicos Relativos à Ocorrências/Surtos de Doenças Transmitidas por Limentos (DTAS) no Estado do Paraná – Brasil, no Período de 1987 a 2000. **Ciências Agrotécnicas**, v. 30, n. 6, 2006.
- FRYE, J. G.; FEDORKA-CRAY, P. J. Prevalence, distribution and characterization of Ceftiofur resistance in *Salmonella enterica* isolated from animals in the USA from 1999 to 2003. **Antimicrobial Agents**, v. 30, p. 134-142, 2007.
- GUERRA, B. et al. Characterization of a Self-Transferable Plasmid from *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Clinical Isolates Carrying Two Integron-Borne Gene Cassettes Together with Virulence and Drug Resistance Genes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 9, 2002.
- KELLEY, T. R. et al. Antibiotic Resistance of Bacterial Litter Isolates. **Poultry Science**, v. 77, 1998
- MACDONALD, M. D. K. L. et al. Changes in Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Isolated From Humans in the United States. **JAVMA**. v. 258, n. 11, 1987.
- MOLBAK, K. et al. Increasing Quinolone Resistance in *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 5, 2002.
- RISTOW, L. E. Salmonelose aviária. **Jornada do conhecimento Tecsa Avicultura**. 2010. Disponível em: <http://www.tecsa.com.br/media/file/pdfs/DICAS%20DA%20SEMANA/AVICULTURA%202010/SALMONELOSE%20AVI%C3%81RIA.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2011.
- THRELFALL, E. J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food and water-borne infections. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 26, n. 2, 2002.

## **ATIVIDADE MICROBIANA DE MACRÓFAGOS ABDOMINAIS DE AVES SPF SUPLEMENTADAS COM VITAMINA E FRENTE AO VIRUS DA BRONQUÍTE INFECCIOSA**

<sup>1</sup>Juliana Maria de Almeida, <sup>2</sup>Ilenita Moura Stefani,  
<sup>1</sup>Rodrigo Guilherme Backes, <sup>3</sup>Claudia Pies Biffi,  
<sup>1</sup>Gabriella Bassi das Neves, <sup>4</sup>Wagner Loyola

<sup>1</sup> *Mestrandos em Ciência Animal, CAV/UDESC*

<sup>2</sup> *PhD em Sanidade avícola, professora Adjunta CEO/CAV - UDESC*

<sup>3</sup> *Doutoranda em Ciência Animal CAV/UDESC, professora colaboradora  
CAV/UDESC*

<sup>4</sup> *Pesquisador Embrapa Suínos e Aves*

**RESUMO:** A vitamina E é conhecida como um potente imunestimulante na avicultura. Entretanto, a dosagem correta desta suplementação ainda é controversa. Com isso, este trabalho objetivou analisar a interferência da vitamina E na resposta imunológica das aves vacinadas e desafiadas com vírus da Bronquite Infecciosa das aves (VBI), analisando a atividade microbicida de macrófagos abdominais e qual dose da vitamina é melhor para essa resposta. Para isso foram utilizadas 50 aves SPF alojadas com um dia de vida em isoladores na Embrapa Suínos e Aves. As aves foram divididas em 10 grupos com cinco aves cada, incluindo grupo controle positivo e negativo. Receberam diferentes quantidades de suplementação de vitamina E (0,15, 50 e 200 UI/Kg), sendo dois grupos para cada tratamento. No décimo quarto dia de vida as aves foram vacinadas via óculo-nasal com a vacina comercial para Bronquite Infecciosa (H-120) e após 28 dias, um grupo por tratamento foi desafiado com VBI cepa clássica (M-41). Cinco dias após o desafio as aves foram necropsiadas e os macrófagos abdominais foram coletados para análise da atividade microbicida através da avaliação da ação fagocítica do macrófago junto a uma cultura de *Salmonella* Enteritidis e ao final feito a contagem das colônias e o resultado avaliado por teste ANOVA e t Student. Através destes testes, pode-se observar uma significativa redução de inóculo de *Salmonella* Enteritidis nos grupos tratados

com a maior suplementação de vitamina E (200 UI/kg), quando comparado com os grupos que não receberam ou receberam quantidades menores (0, 15, 50 UI/Kg). Com esses resultados podemos concluir que, nesse experimento, houve uma melhora na resposta imune inata influenciada pela suplementação de vitamina E.

**Palavra-Chave:** imunidade, nutrição, vacina, lavado abdominal

## INTRODUÇÃO

A atividade econômica da avicultura no Brasil vem se destacando cada vez mais. Atualmente, o país é o terceiro maior produtor e o maior exportador de carne de frango, comercializando este produto para mais de 150 países (UBA, 2009). Esse crescimento na produção se fez devido a melhorias genéticas, do manejo nutricional e sanitário das aves. Sabendo da importância da nutrição para o desenvolvimento físico e fisiológico da ave, vários ingredientes vêm sendo empregados e estudados na alimentação animal a fim de melhorar o sistema imunológico e desempenho animal (KLASING, 1998; KIDD, 2004). Sabe-se que as vitaminas são necessárias nos processos metabólicos sendo de extrema importância para o desempenho animal. A quantidade dessas vitaminas pode interferir no organismo das aves, a falta de alguma vitamina pode levar a distúrbios metabólicos afetando negativamente a produção, enquanto que o aumento de certas vitaminas pode melhorar significativamente a imunidade (FÉLIX et al., 2009). A vitamina E, por exemplo, é caracterizada como uma dos principais agentes nutricionais imunoestimulantes por ter a capacidade de aumentar as linhas de defesas das aves contra diversos agentes resultando na resistência às infecções por bactérias e vírus (CHEW, 1996). Entretanto para ocorrer essa estimulação do sistema imunológico são utilizadas doses maiores de suplementação. Assim diversos estudos vêm comprovando o efeito imunomodulador da vitamina E, porém há ainda certa divergência sobre a quantidade adequada de suplementação, relevando-se a importância de mais estudos sobre essa ação imunoestimulante e também sobre a dosagem ideal de suplementação.



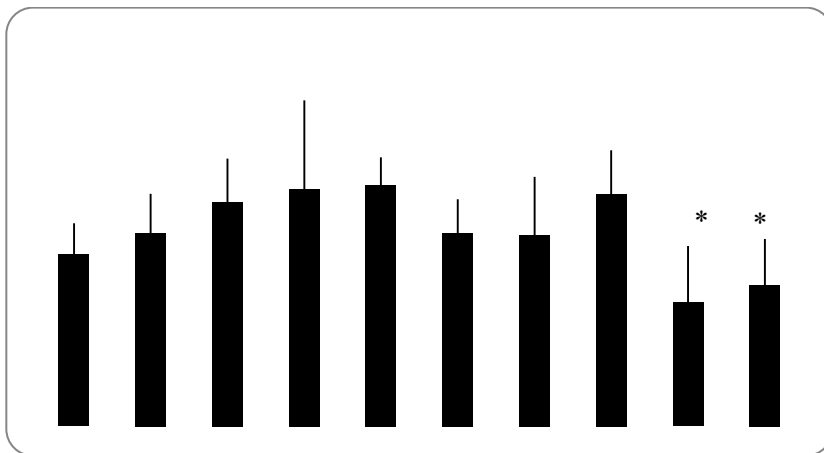
Com isso, o objetivo deste trabalho é analisar se a vitamina E interfere na resposta imunológica das aves vacinadas e desafiadas com o VBI através da análise da atividade fagocítica de macrófagos abdominais, bem como avaliar a dosagem que irá favorecer mais a resposta imune em aves da linhagem SPF.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 50 aves SPF alojadas com um dia de vida em isoladores na Embrapa Suínos e Aves. As aves foram divididas em 10 grupos com cinco aves cada, incluindo grupo controle positivo e negativo. Esses grupos receberam diferentes quantidades de suplementação de vitamina E (0,15, 50 e 200 UI/Kg), sendo dois grupos para cada tratamento. No décimo quarto dia de vida as aves foram vacinadas via óculo-nasal com a vacina comercial para Bronquite Infecciosa (H120-Ma) e após 28 dias, um grupo por tratamento foi desafiado com VBI cepa clássica (M-41). Cinco dias após o desafio as aves foram necropsiadas e realizado uma lavagem abdominal, com meio RPMI 1640 com 5% de albumina bovina, para coletar os macrófagos segundo o método utilizado por Sabet et al. (1977) modificado por Trembicki et al. (1984), onde os animais recebem uma injeção intraperitoneal (IP) de Sephadex G-40 (Sigma suspensão 3%) 48 horas antes do abate, a fim de promover a ativação abdominal dos macrófagos. A análise da atividade microbicida desses macrófagos foi feita segundo a técnica descrita por Desiderio e Campbell (1983). Foi utilizada *Salmonella* Enteritidis, retiradas na fase log de crescimento de forma asséptica e lavadas três vezes com tampão fosfato salino (PBS) e sua concentração ajustada em  $2 \times 10^6$  UFC/0,8 mL de meio RPMI com 5% de soro fetal bovino. Após este procedimento foi adicionado 0,2 mL de RPMI 1640 contendo  $2 \times 10^6$  de macrófagos em placas de 24 poços e incubado por 30 minutos a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>. Ao fim do período de incubação as células fagocíticas foram plaqueadas em placas de Petri contendo ágar Verde Brilhante e quantificadas. Por fim, foi realizado a contagem das colônias e o resultado avaliado pelos testes estatísticos ANOVA e t Student.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da atividade microbicida dos macrófagos, obtido através do lavado abdominal das aves, permitiu identificar uma significativa redução de inóculo de *Salmonella Enteritidis* nos grupos tratados com a maior suplementação de vitamina E (200 UI/kg), quando comparado com os grupos que não receberam e que receberam quantidades menores (0, 15, 50 UI/Kg) representado pelo Gráfico 1. Não houve diferença significativa entre si dos grupos vacinados e vacinados e desafiados, indicando assim, uma melhora na resposta imune inata influenciada pela suplementação de vitamina E.



**Gráfico 1.** Atividade fagocítica dos macrófagos mostrado através da quantidade de inóculo de *Salmonella Enteritidis*

Legenda: CND: controle não desafiado sem suplementação; CD: controle desafiado sem suplementação e os números são referentes à suplementação de vitamina E.

Esses resultados diferem dos encontrados por Leshchinsky e Klasing (2001), que avaliando a resposta imune inata encontraram uma diferença em aves suplementadas com níveis moderados de vitamina E (50 UI/Kg). Assim como Gore e Quresh (1997) que constataram uma melhor resposta fagocítica de macrófagos na dosagem de 10UI/kg via ovo, melhorando a qualidade de pintos e perus pós-eclosão.

Entretanto os resultados encontrados nesse experimento corroboram com outros na literatura. Niu et al. (2009) descobriram que tanto a porcentagem de macrófagos do exsudato abdominal bem como a sua capacidade fagocítica, se mostraram aumentados em aves submetidas à estresse térmico e suplementadas com dosagens maiores de vitamina E (100 e 200mg/Kg). Resultado semelhante foi encontrado por Konjufca et al (2004), que observaram uma melhora na atividade fagocitária de macrófagos em aves jovens com altas doses de suplementação de vitamina E (110 a 220 mg/Kg).

Esses resultados comprovam a importância da vitamina E no sistema imunológico das aves, e também a divergência nos níveis de suplementação desta vitamina, sendo relevante estudos nesta área a fim de melhorar a utilização desse suplemento tão importante na produção avícola.

## REFERÊNCIAS

CHEW, B.P. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. **Animal Feed Science and Technology**, v.59, n.3, p.103-114, 1996.

DESIDERIO, J. V.; CAMPBELL, S. G. Intraphagocytic killing of *Salmonella typhimurium* by liposome-encapsulated cephalothin. **Journal of Infectious Diseases**, v.148, n.3, p.563-570, 1983.

FÉLIX, et al. Níveis vitamínicos para frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n. 2, p. 619-626, 2009.

GORE, A. B. e M. A. QURESHI. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure **Poultry Science**, v.76, p. 984–991, 1997.

KIDD, M. T. Nutritional modulation of immune function in broilers. **Poultry Science**, v.83, n.4, p.650-657, 2004.

KLASSING, K. C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v.77, n.8, p.1119-1125, 1998.

KONJUFCA, V. K. et al. Influence of dietary vitamin E on phagocytic functions of macrophages in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.1530-1534, 2004.

LESHCHINSKY, T. V.; KLASSING, K.C. Relationship between the level of dietary vitamin E and Immune response of broiler chickens. **Poultry Science**, v.80, p.1590-1599, 2001.

NIU, Z.Y. et al. Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. **Poultry Science**, v.88, p.2101-2107, 2009.

SABET, T. et al. A simple method for obtaining peritoneal macrophages from chickens. **Journal of Immunological Methods**, v.14, p.103-110, 1977.

TREMBICKI, K. A. et al. Avian peritoneal exudate cells: a comparison of stimulation protocols. **Developmental; Comparative Immunology**, v.8, 1984.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Relatório anual de 2009**. Disponível em: <http://www.abef.com.br>. Acesso em: 14 ago. 2010.

## **BIOMETRIA DE FRANGOS DE CORTE AOS 21 DIAS ALIMENTADOS COM RAÇÃO CONTENDO EXTRATO ETANÓLICO DE *Piper cubeba*<sup>1</sup>**

<sup>2</sup>Marcela da Silva Rubio, <sup>3</sup>Érica dos Santos Mello,  
<sup>3</sup>Nayara Pantolfi, <sup>3</sup>Patricia Salvador Baptista, <sup>4</sup>Rosangela da Silva de Laurentiz, <sup>5</sup>Antonio Carlos de Laurentiz

<sup>1</sup> *Projeto financiado pela UNESP – Primeiros Projetos – Auxílio FAPESP bolsa de Mestrado e Iniciação Científica*

<sup>2</sup> *Aluna do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Animal – UNESP – Campus Dracena/Ilha Solteira - \*ma.rubio192@gmail.com*

<sup>3</sup> *Alunos do Curso de Zootecnia – UNESP - Campus de Ilha Solteira*

<sup>4</sup> *Professora do Departamento de Física e Química – UNESP – Campus de Ilha Solteira*

<sup>5</sup> *Professor do Departamento de Biologia e Zootecnia – UNESP – Campus de Ilha Solteira*

**RESUMO:** Na alimentação de frangos de corte, poucos os trabalhos abordam a utilização de aditivos fitogênicos sobre o desempenho animal, sendo necessário o desenvolvimento de pesquisas com o âmbito de assegurar a sua utilização e viabilidade. O objetivo deste estudo foi realizar análise biométrica de órgãos de frangos de corte aos 21 dias suplementados com extrato etanólico de *Piper cubeba*. O experimento foi realizado no Setor de avicultura da FEIS-UNESP com a utilização de 120 pintos de corte, lote misto Cobb, alojados em gaiolas experimentais com um dia de idade, suplementados com 3 diferentes concentrações de extrato etanólico de *Piper cubeba*. Os dados biométricos foram obtidos aos 21 dias, total de 20 animais. Após o abate, foi realizada a necropsia e pesagem dos órgãos pró-ventrículo e moela, fígado, pâncreas, intestino delgado, intestino grosso e aferição do comprimento do intestino delgado+grosso, assim, baseado no peso vivo de cada ave, foi determinado o peso relativo (%) dos órgãos. Os resultados das biometrias no presente experimento não observaram diferenças significativas, exceto para o peso relativo do pâncreas. O maior peso relativo do pâncreas foi observado no tratamento com menor inclusão do extrato etanólico da pimenta (T3), onde provavelmente essa variação pode ser

atribuída ao aumento da ação enzimática digestora, auxiliando no processo de digestão. Os resultados obtidos neste estudo nos levam a concluir que o menor nível de inclusão de extrato etanólico de *Piper cubeba* na dieta de frangos de corte proporcionou maior peso relativo do pâncreas.

**Palavras-Chave:** Aditivos fitogênicos; Pimenta de Java; Cubeb pepper; Análise Biométrica.

## INTRODUÇÃO

A avicultura industrial destaca-se por adotar alta tecnologia e garantir proteína de alta qualidade a preços acessíveis, com produção e fornecimento de alimento seguro ao consumidor, que se torna cada vez mais exigente no que diz respeito ao alimento que vai a sua mesa (ROCHA, 2009).

Existe hoje no mercado uma intensa busca por produtos alternativos aos antibióticos utilizados como promotores de crescimento, sem que ocorram perdas nos índices zootécnicos. Esses produtos têm como principal foco de atuação a fisiologia gastrointestinal, embora existam outros fatores coadjuvantes contribuindo para o bom desempenho. Vários trabalhos têm demonstrado que ácidos orgânicos, enzimas, simbióticos, prebióticos, probióticos e aditivos fitogênicos, quando adicionados às rações, podem proporcionar aos animais desempenho semelhante ao alcançado quando recebem antibióticos como promotores de crescimento (CRISTANI, 2008).

Produtos naturais são promissoras fontes para a descoberta de novos agentes terapêuticos em potencial (SILVA, 2007). Portanto, aditivos fitogênicos são considerados um potencial substituto para antibióticos promotores de crescimento (HONG, 2012).

A espécie *Piper cubeba*, conhecida no Brasil como "pimenta de Java" e em Inglês como "Cubeb pepper", é uma planta medicinal popular que tem sido amplamente utilizada na Europa desde a Idade Média, bem como em muitos outros países, incluindo a Arábia Saudita, Índia, Indonésia e Marrocos (MAISTRO, 2011). Os frutos são usados como uma especiaria e também têm sido utilizados para

o tratamento da dor abdominal, asma, diarreia, disenteria, enterite, gonorreia e sífilis (MAISTRO, 2011; SILVA, 2007).

No entanto, na alimentação de frangos de corte, poucos os trabalhos abordam a utilização de aditivos fitogênicos sobre o desempenho animal, sendo necessário o desenvolvimento de pesquisas com o âmbito de assegurar a sua utilização e viabilidade.

Contudo, este trabalho teve como objetivo realizar análise biométrica de órgãos de frangos de corte suplementados com extrato etanólico de sementes secas de *Piper cubeba*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura da FEIS/UNESP, campus de Ilha Solteira, onde foram utilizados 120 pintainhos de corte, provenientes de lote misto da linhagem Cobb, alojados em baterias experimentais com um dia de idade.

Os tratamentos utilizados foram: T1 - controle positivo (CP) com adição do antibiótico promotor de crescimento Quixalud 60% (0,01%); T2 - tratamento controle negativo (CN) sem adição de promotor de crescimento; T3 - CN com extrato etanólico de *Piper cubeba* na dose de 0,17%; T4 - CN com extrato etanólico de *Piper cubeba* na dose de 0,34% e T5 - CN com extrato etanólico de *Piper cubeba* na dose de 0,52% por kg de ração.

Os dados biométricos foram obtidos no final da fase inicial (21 dias), sendo abatida por deslocamento cervical uma ave por repetição, totalizando 20 animais. Após o abate, foi realizada a necropsia e retirada dos órgãos pró-ventrículo e moela, fígado, pâncreas, intestino delgado, intestino grosso, posteriormente foi realizado a biometria dos mesmos, medindo o intestino delgado + intestino grosso com o auxílio de uma fita métrica e para o peso dos órgãos foi utilizada uma balança analítica de precisão, assim baseado no peso vivo de cada ave foi determinado o peso relativo (%).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística no programa SISVAR 5.1 (FERREIRA, 2011). Quando as diferenças se mostravam significativas através da análise de variância, às médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os dados de biometria das variáveis, peso relativo (peso do órgão/peso da ave) e comprimento de órgãos de frangos de corte suplementados com extrato etanólico de *Piper cubeba*, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) somente para o peso relativo do pâncreas onde o tratamento T3 (0,17% de extrato etanólico) proporcionou o maior peso relativo e para as demais características não foram observadas diferenças significativas.

**Tabela 1.** Análise estatística das variáveis, peso relativo e comprimento de órgãos de Frangos de Corte suplementados com extrato etanólico de sementes secas de *Piper cubeba*

Variáveis	Peso Relativo (%)					Comprimento (cm)	
	Pró-Ventriculo Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino Delgado	Intestino Grosso	Intestino Delgado + Intestino Grosso	
T1	3,630	2,860	0,298 <sup>ab</sup>	2,960	0,708	1,513	
T2	3,327	2,765	0,250 <sup>b</sup>	2,902	0,740	1,550	
T3	3,712	3,005	0,328 <sup>a</sup>	3,128	0,830	1,443	
T4	3,670	2,893	0,280 <sup>ab</sup>	3,148	0,925	1,460	
T5	3,732	2,780	0,265 <sup>ab</sup>	3,503	0,973	1,423	
CV (%)	9,43	12,59	12,42	15,25	17,64	9,76	
p value	0,47	0,88	0,05	0,45	0,09	0,71	

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )



Os resultados das biometrias no presente experimento onde não foram observadas diferenças significativas, exceto para o peso relativo do pâncreas, corroboram com os estudos realizados por Chaves (2006) e Adil (2010), nos quais constataram que ao fornecer ácidos orgânicos e probióticos para frangos de corte, não observaram diferenças significativas no peso dos órgãos. Entretanto, no presente estudo foram observadas diferenças significativas para o peso relativo do pâncreas, no qual o tratamento T3 com menor inclusão do extrato etanólico da pimenta (0,17%) proporcionou o maior peso relativo do pâncreas, provavelmente essa variação pode ser atribuída ao aumento da ação enzimática digestora, auxiliando no processo de digestão.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo nos levam a concluir que a adição de extrato etanólico de *Piper cubeba* na dieta de frangos de corte, afetou somente o peso relativo do pâncreas no qual o menor nível de inclusão do extrato proporcionou o maior peso relativo do pâncreas.

## REFERÊNCIAS

- ABOUL-ENEIN, H.Y.; KLADNAC, A.; KRUKD, I. Radical scavenging ability of some compounds isolated from *Piper cubeba* towards free radicals. Luminescence Journal, v.26, p. 202–207, 2011.
- ADIL, S.; BANDAY, T. et al. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance intestinal, histomorphology and serumbiochemistry of broiler chicken. Veterinary Medicine International, v. 2010, p. 1-7, 2010.
- CHAVES, L.S. et al. Desempenho e morfometria de órgãos de aves caipiras melhoradas oriundas de ovos inoculados com probiótico e submetidos a desafio por *Salmonella enteritidis*. In: III CONPEEX, 2006, Anais... UFG, 2006, p. 1-4.
- CRISTANI, J. Acidificantes e probióticos na alimentação de leitões recém desmamados. 70f. Tese (Doutorado) - UNESP, Jaboticabal-SP, 2008.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

HONG, J.C.; STEINER, T.; AUFY, A.; LIEN, T.F. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. *Livestock Science*, v.144, p. 253–262, 2012.

MAISTRO, E.L.; NATEL, A.V.M.; SOUZA, G.H.B.; PERAZZOC, F.F. Genotoxic effects of (-)-cubebin in somatic cells of mice, *Journal Applied Toxicology*. v.31, p. 185–189, 2011.

ROCHA, F.R.T. Glicomanano esterificado em rações para frangos contendo milho ou sorgo experimentalmente contaminadas por fungos ou com aflatoxina B1. 101f. Tese (Doutorado PPGCA) - UFG, Goiânia-GO, 2009.

SILVA, M.L.A.; COÍMBRA, H.S. et al. Evaluation of *Piper cubeba* extract, (-)-cubebin and its semi-synthetic derivatives against oral pathogens. *Phytotherapy Research*, Wiley InterScience, v.21, p. 420–422, 2007.

## **BIOMETRIA DE FRANGOS DE CORTE AOS 21 DIAS ALIMENTADOS COM RAÇÃO CONTENDO SEMENTES SECAS DE *Piper cubeba*<sup>1</sup>**

<sup>2</sup>Marcela da Silva Rubio, <sup>3</sup>Leonardo Tedeschi, <sup>3</sup>Felipe de Lima Silva, <sup>2</sup>Sérgio Turra Sobrane Filho, <sup>4</sup>Antonio Carlos de Laurentiz, <sup>5</sup>Rosangela da Silva de Laurentiz

<sup>1</sup> Projeto financiado pela UNESP – Primeiros Projetos – Auxílio FAPESP  
bolsa de Mestrado e Iniciação Científica

<sup>2</sup> Aluna do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Animal –  
UNESP – Campus Dracena/Ilha Solteira - \*ma.rubio192@gmail.com

<sup>3</sup> Alunos do Curso de Zootecnia – UNESP - Campus de Ilha Solteira

<sup>4</sup> Professor do Departamento de Biologia e Zootecnia – UNESP – Campus  
de Ilha Solteira

<sup>5</sup> Professora do Departamento de Física e Química – UNESP – Campus de  
Ilha Solteira

**RESUMO:** Na alimentação de frangos de corte, poucos os trabalhos abordam a utilização de aditivos fitogênicos sobre o desempenho animal, sendo necessário o desenvolvimento de pesquisas com o âmbito de assegurar a sua utilização e viabilidade. O objetivo deste estudo foi realizar análise biométrica de órgãos de frangos de corte aos 21 dias suplementados com sementes secas de *Piper cubeba*. O experimento foi realizado no Setor de avicultura da FEIS-UNESP com a utilização de 260 pintos de corte, lote misto Cobb, alojados em galpão experimental com um dia de idade, suplementados com 3 diferentes concentrações de sementes secas de *Piper cubeba*. Os dados biométricos foram obtidos aos 21 dias, total de 20 animais. Após o abate, foi realizada a necropsia e pesagem dos órgãos pró-ventrículo e moela, fígado, pâncreas, intestino delgado, intestino grosso e aferição do comprimento do intestino delgado+grosso, assim, baseado no peso vivo de cada ave foi determinado o peso relativo (%) dos órgãos. Os resultados obtidos através da análise estatística demonstrarão diferenças significativas apenas para peso relativo do intestino delgado, onde o tratamento T2 obteve valores inferiores aos demais e conforme aumentou-se a adição de *Piper cubeba* o peso relativo do intestino delgado também mostrou-se

crescente. Em conclusão, a adição de *Piper cubeba* na dieta de frangos de corte em relação à biometria de órgãos demonstrou-se semelhante ao promotor de crescimento, podendo ser levada em consideração a sua substituição pelas sementes secas de *Piper cubeba*.

**Palavras-Chave:** Aditivos fitogênicos; Pimenta de Java; Cubeb pepper; Análise Biométrica.

## INTRODUÇÃO

A avicultura industrial destaca-se por adotar alta tecnologia e garantir proteína de alta qualidade a preços acessíveis, com produção e fornecimento de alimento seguro ao consumidor, que se torna cada vez mais exigente no que diz respeito ao alimento que vai a sua mesa (ROCHA, 2009).

O uso de antibióticos como melhorador de desempenho vem sendo condenado nas últimas décadas devido ao surgimento de possíveis microorganismos resistentes e pela exigência do mercado consumidor de um produto livre de resíduos. Como alternativa ao uso de antibióticos destaca-se os extratos vegetais e plantas medicinais, utilizando folhas, sementes, raízes, frutos ou mesmo a planta inteira na tentativa de melhorar a digestão, estimular o apetite, como digestivos, anti-séptico, anti-inflamatório e como antioxidante (BUTOLO, 2005).

A espécie *Piper cubeba*, conhecida no Brasil como "pimenta de Java" e em Inglês como "Cubeb pepper", é uma planta medicinal popular que tem sido amplamente utilizada na Europa desde a Idade Média, bem como em muitos outros países, incluindo a Arábia Saudita, Índia, Indonésia e Marrocos (MAISTRO, 2011). Os frutos são usados como uma especiaria e também têm sido utilizados para o tratamento da dor abdominal, asma, diarreia, disenteria, enterite, gonorréia e sífilis (MAISTRO, 2011; SILVA, 2007).

No entanto, na alimentação de frangos de corte, poucos os trabalhos abordam a utilização de aditivos fitogênicos sobre o desempenho animal, sendo necessário o desenvolvimento de pesquisas com o âmbito de assegurar a sua utilização e viabilidade.

Contudo, este trabalho teve como objetivo realizar análise biométrica de órgãos de frangos de corte suplementados com extrato etanólico de sementes secas de *Piper cubeba*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura da FEIS/UNESP, campus de Ilha Solteira, onde foram utilizados 260 pintainhos de corte, provenientes de lote misto da linhagem Cobb, alojados em galpão experimental com um dia de idade.

Os tratamentos utilizados foram: T1 - controle positivo (CP) com adição do antibiótico promotor de crescimento Quixalud 60% (0,01%); T2 - tratamento controle negativo (CN) sem adição de promotor de crescimento; T3 - CN com sementes secas de *Piper cubeba* na dose de 1%; T4 - CN com sementes secas de *Piper cubeba* na dose de 2% e T5 - CN com sementes secas de *Piper cubeba* na dose de 3% por kg de ração.

Os dados biométricos foram obtidos no final da fase inicial (21 dias), sendo abatida por deslocamento cervical uma ave por repetição, totalizando 20 animais. Após o abate, foi realizada a necropsia e retirada dos órgãos pró-ventrículo e moela, fígado, pâncreas, intestino delgado, intestino grosso, posteriormente foi realizado a biometria dos mesmos, medindo o intestino delgado + intestino grosso com o auxílio de uma fita métrica e para o peso dos órgãos foi utilizada uma balança analítica de precisão, assim baseado no peso vivo de cada ave foi determinado o peso relativo (%).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística no programa SISVAR 5.1 (FERREIRA, 2011). Quando as diferenças se mostravam significativas através da análise de variância, às médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através da análise estatística (Tabela 1), demonstrarão diferenças significativas apenas para peso relativo do intestino delgado ( $p < 0,05$ ), onde o tratamento T2 obteve valores inferiores aos demais e conforme se aumentou a adição de *Piper cubeba* o peso relativo do intestino delgado também se mostrou crescente.

**Tabela 1.** Análise estatística das variáveis, peso relativo e comprimento de órgãos de Frangos de Corte suplementados com sementes secas de *Piper cubeba*

Variáveis	Peso Relativo (%)				Comprimento (cm)		
	Pró-Ventriculo Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino Delgado	Intestino Grosso	Intestino Delgado + Intestino Grosso	
T1	4,343	2,880	0,308	4,033 <sup>ab</sup>	0,783	1,525	
T2	4,505	2,620	0,288	3,778 <sup>a</sup>	0,810	1,473	
T3	3,915	2,748	0,270	3,950 <sup>ab</sup>	0,675	1,553	
T4	4,473	2,970	0,265	4,448 <sup>b</sup>	0,813	1,525	
T5	4,895	2,883	0,288	5,0175 <sup>c</sup>	0,900	1,583	
CV (%)	14,33	11,89	18,06	6,02	15,17	7,71	
p value	0,34	0,62	0,78	0,00	0,18	0,73	

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Bhanja (2010) e Stringhini (2006) constataram em seus experimentos que a adição de nutrientes naturais e diferentes níveis de proteína bruta, respectivamente, não geraram diferenças significativas perante o peso do Intestino Delgado de frangos de corte, resultado não observado no presente experimento.

Contudo, nota-se que com a adição de promotor de crescimento e de *Piper cubeba*, os pesos do intestino delgado foram superiores ao tratamento controle negativo, o que pode ser atribuído a um aumento na produção de enzimas digestivas e na produção de enterobactérias benéficas ao organismo desses animais, com conseqüente diminuição da abrasão e das lesões intestinais, o que pode não ter ocorrido no trato gastrointestinal do tratamento controle negativo.

## CONCLUSÃO

Em conclusão, a adição de *Piper cubeba* na dieta de frangos de corte em relação à biometria de órgãos demonstrou-se semelhante ao promotor de crescimento, podendo ser levada em consideração a sua substituição pelas sementes secas de *Piper cubeba*.

## REFERÊNCIAS

BHANJA, S.K; ANJALI DEVI, C.; PANDA, A.K.; SHYAM SUNDER, G. Effect of post-hatch nutrient intubation on performance, intestinal growth, meat yield and immune response in broiler chickens. Journal Animal Science, Asian-Aust., v.23, n.4, p. 515-520, 2010.

BUTOLO, J.E. Alimentos funcionais. I SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 2005, Anais... Botucatu – SP, Brasil, 2005, p. 1-13.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system, Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

MAISTRO, E.L.; NATEL, A.V.M.; SOUZA, G.H.B.; PERAZZOC, F.F. Genotoxic effects of (-)-cubebin in somatic cells of mice, Journal Applied Toxicology, v.31, p. 185–189, 2011.

ROCHA, F.R.T. Glicomanano esterificado em rações para frangos contendo milho ou sorgo experimentalmente contaminadas por fungos ou com aflatoxina B1, Tese de Doutorado, UFG, PPGCA, Goiânia-GO, 101 f., 2009.

SILVA, M.L.A.; COÍMBRA, H.S. et al. Evaluation of *Piper cubeba* extract, (-)-cubebin and its semi-synthetic derivatives against oral pathogens, Phytotherapy Research, Wiley InterScience, v.21, p. 420–422, 2007.

STRINGHINI, J.H.; ANDRADE, M.L.; ANDRADE, L.; XAVIER, S.A.G.; CAFÉ, M.B.; LEANDRO, N.S.M. Desempenho, balanço e retenção de nutrientes e biometria dos órgãos digestivos de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de proteína na ração pré-inicial. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.6, p.2350-2358, 2006.



## **DETECÇÃO SOROLÓGICA DE *Mycoplasma synoviae* EM AVES DESAFIADAS USANDO UM NOVO ELISA**

<sup>1</sup>Gwenllyan F. Slacum, <sup>2</sup>Bart Van Leerdam, <sup>2</sup>Mariangela Manfredini

<sup>1</sup>BioChek USA Corp, 3 Southgate Road, Scarborough, ME 04074

<sup>2</sup>BioChek BV, Burg. Bracklaan 57, 2811 BP Reeuwijk, The Netherlands

**RESUMO:** A detecção precoce de novas infecções por *Mycoplasma synoviae* (MS) através de programas de monitoria é essencial para o controle/erradicação de infecções por MS. Historicamente, os programas de monitoria para MS tem se baseado no uso de Aglutinação Rápida em Placa (SAR), inibição de hemaglutinação (HI), e Ensaio de ELISA. Entretanto, as opiniões variam em relação à sensibilidade da Aglutinação Rápida em Placa (SAR) e do ELISA. Estudos prévios, nos quais o ELISA apresentou uma menor sensibilidade foram conduzidos com kits de ELISA para MS comercialmente disponíveis e produzidos a partir de antígeno completo. Recentemente, um novo ELISA para MS baseado em antígeno recombinante com excelente especificidade (>98%) foi aprovado para uso nos Estados Unidos. Nesse estudo, a sensibilidade do kit de ELISA para MS recentemente aprovado foi comparada com o SAR MS para a detecção de MS de 7 a 21 dias depois do desafio. A sensibilidade do ELISA (BioChek) e SAR foi testada em soros de reprodutoras desafiadas as 4 semanas de idade com cepas de MS WVU 1853 e K5664, usando diferentes lotes de cada kit nas mesmas amostras.

## **CORRELAÇÃO DE CONDENAÇÃO DE CARÇA E RESULTADOS DE PRODUÇÃO COM VARIÁVEIS COMUNS NA CRIAÇÃO DE FRANGO DE CORTE**

Beatriz Cardoso, Virginia Leo de Almeida Pereira,  
Elmiro Rosendo do Nascimento, Simone Machado

*Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Sanidade Avícola,  
Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.*

**RESUMO:** A produção avícola possui muitas variáveis e gera muitos dados. Esses itens são ricos em informações, porém pouco aproveitados. São dados que ajudam na análise dos pontos críticos dos fatores envolvidos no processo de produção de carne, como os índices zootécnicos, a condenação de carcaça, e os resultados econômicos. Podemos usar estudos observacionais destas variáveis e suas correlações com os parâmetros de interesse. Para isso podemos usar dados de campo retroativos e sem nenhuma interferência dos pesquisadores. Neste estudo usamos dados de quinhentos lotes de uma mesma integração, que tiveram computado as condenações no abate e os resultados de produção. Observamos que os resultados tinham diferenças consideráveis entre os lotes sem causas visíveis, como doenças ou falha em algum equipamento. Foram tabuladas informações sobre variáveis envolvidas na produção e alojamento (como - mas não exclusivamente - tipo e idade de construção; marca e tipo dos comedouros e bebedouros; tipo de piso; tipo, quantidade e qualidade de cama; qualidade do ar e nível da amônia; tipo de ventilação; nebulização; qualidade e pH da água; linhagem; responsável técnico; nível de biossegurança; densidade; idade de abate e localização da granja). Foi usado um programa estatístico e de análise multivariada. As correlações encontradas foram diversas. Houve mais de uma variável envolvida para um problema assim como uma só variável teve correlação com mais de uma alteração. Por exemplo: a condenação por artrite estava correlacionada tanto à qualidade de cama como com o tipo de alimento (com e sem proteína animal), porém o problema de artrite não impactava

nenhum dos parâmetros zootécnicos (peso médio, ganho de peso diário, conversão alimentar) enquanto que a qualidade da cama estava correlacionada com todos os resultados produtivos. Pudemos concluir que o estudo observacional tem importância na resposta à certos problemas e é uma ferramenta importante para avaliar melhor quais variáveis (ou suas combinações) podem ter maior impacto na obtenção dos melhores resultados econômicos.



## Realização



## Co-Promoção



## Apoio



## Patrocinadores



**Informações • Fone/Fax 49 3329.1640 • 49 3328.4785**

**Rua Egito, 31 - E • Bairro Maria Goretti**

**Cep 89.801-420 • Chapecó • SC**

**e-mail [nucleovet@nucleovet.com.br](mailto:nucleovet@nucleovet.com.br)**